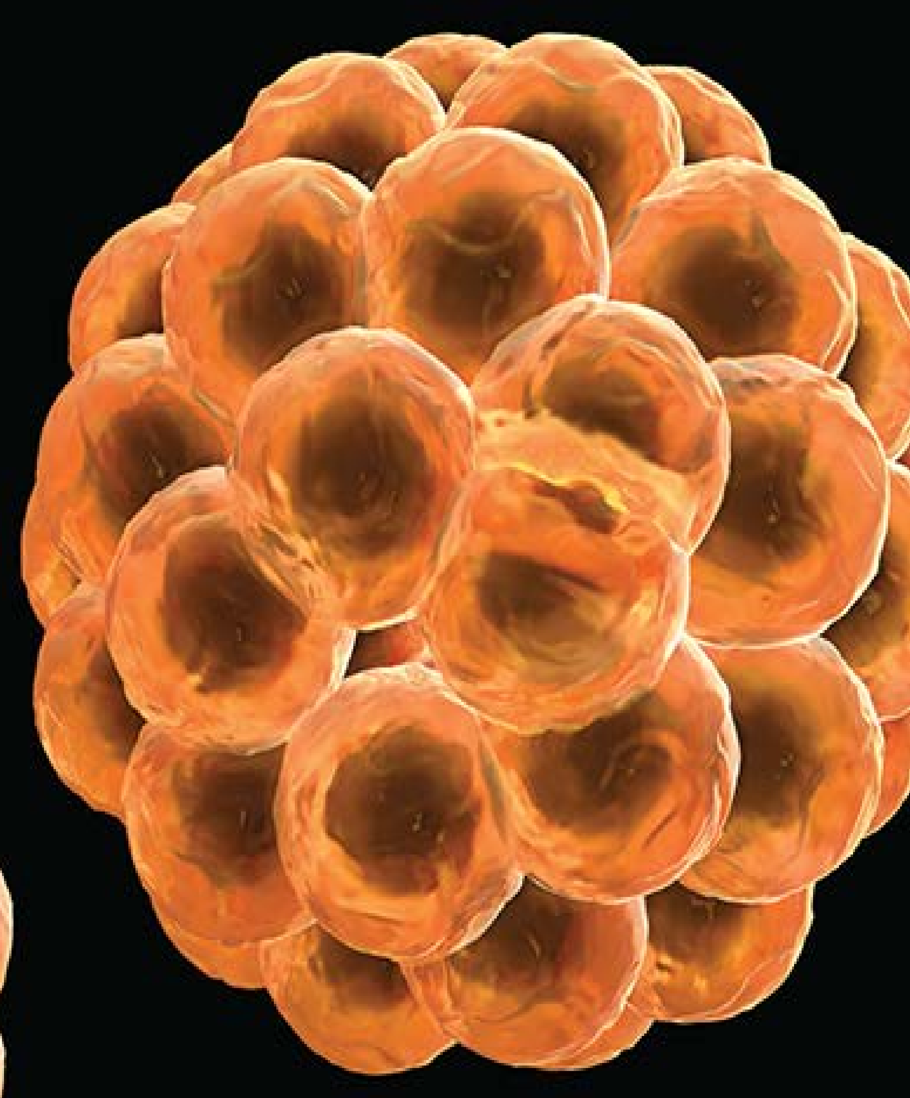
Karen C. Carroll
Stephen A. Morse
Timothy Mietzner
Steve Miller





Jawetz, Melnick & Adelberg

MICROBIOLOGÍA MÉDICA

27ª edición

Mc Graw Hill Education
LANGE®

a LANGE medical book

Jawetz, Melnick, & Adelberg
Microbiología médica

27a. edición

Karen C. Carroll, MD
Professor of Pathology
The Johns Hopkins University School of Medicine
Director, Division Medical Microbiology
The Johns Medical Institutions
Baltimore, Maryland

Jeffery A. Hobden, PhD
Associate Professor
Department of Microbiology, Immunology and Parasitology
LSU Health Sciences Center—New Orleans
New Orleans, Louisiana

Steve Miller, MD, PhD
Department of Laboratory Medicine
University of California
San Francisco, California

Stephen A. Morse, PhD
Associate Director for Environmental Microbiology
Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases
National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases
Atlanta, Georgia

Timothy A. Mietzner, PhD
Associate Professor of Microbiology
Lake Erie College of Osteopathic Medicine at Seton Hill
Greensburg, Pennsylvania

Barbara Detrick, PhD
Professor of Pathology
The Johns Hopkins University School of Medicine
Director, Clinical Immunology Laboratories
The Johns Hopkins Medical Institutions
Baltimore, Maryland

Thomas G. Mitchell, PhD
Department of Molecular Genetics and Microbiology
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

James H. McKerrow, MD, PhD
University of California
San Diego, California

Judy A. Sakanari, PhD
Adjunct Professor
Center for Parasitic Diseases
Department of Pharmaceutical Chemistry
University of California
San Francisco, California

Traducción:
José Rafael Blengio Pinto
Gabriel González Loyola
Héctor Barrera Villavicencio



MÉXICO • AUCKLAND • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • GUATEMALA • LONDRES
MADRID • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • NUEVA YORK • SAN FRANCISCO
SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO • SIDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TORONTO

Program & Portfolio Manager Professional: Javier de León Fraga
Development editor: Norma Leticia García Carbajal
Supervisor de producción: Juan Manjarrez de la Vega

NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El(los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

MICROBIOLOGÍA MÉDICA.

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, ni parcial, ni totalmente, ni registrada en / o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico, o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial.



DERECHOS RESERVADOS © 2016, 2014, 2011 respecto a la tercera edición por
McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
Edificio Punta Santa Fe
Prolongación Paseo de la Reforma 1015 Torre A
Piso 16, Colonia Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C.P. 01376, México, D. F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN: 978-607-15-1370-0
ISBN: 978-607-15-1135-5 (edición anterior)
CTP 04/16

Translated from the twenty-seven English edition of:
Jawetz, Melnick, & Adelberg´s Medical Microbiology
Copyright © 2016 by McGraw-Hill Education.
Previous editions copyright © 2013, 2010, 2004 by McGraw-Hill Companies, Inc.;
copyright © 2001, 1995, 1991, 1989 by Appleton & Lange.

All Rights Reserved
ISBN: 9780-0-71-82498-9

1234567890
Impreso en México

2345789016
Printed in Mexico

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, ni parcial, ni totalmente, ni registrada en/o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico, o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial

Contenido

_Caroll_4R.indd iii 15/04/16

SECCIÓN **VII**

DIAGNÓSTICO MÉDICO MICROBIOLÓGICO Y CORRELACIÓN CLÍNICA 741

Karen C. Carroll, MD y Steve Miller, MD, PhD

Comprensión de los aspectos clínicos relevantes de la microbiología con *Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg, vigésima séptima edición*

- Presenta información concisa y actualizada sobre las funciones que los microorganismos desempeñan en la salud y las enfermedades humanas
- Relaciona principios fundamentales con el diagnóstico y tratamiento de infecciones microbianas
- Refleja la enorme expansión del conocimiento médico por medio de los mecanismos moleculares, avances en la comprensión de la patogenia microbiana, además de nuevos tratamientos farmacológicos
- Incluye descripciones concisas de cada microorganismo, junto con perspectivas esenciales sobre la patogenia, pruebas diagnósticas de laboratorio, manifestaciones clínicas, tratamientos, así como epidemiología
- Todo un capítulo dedicado al estudio de casos que se enfocan en el diagnóstico diferencial y tratamiento de las infecciones microbianas
- Introducción a los conceptos básicos de microbiología a través de la bacteriología, virología, micología y parasitología
- El capítulo de inmunología está totalmente revisado y actualizado

C A P Í T U L O

48

Casos y correlaciones clínicas

El tratamiento de las enfermedades infecciosas exige la comprensión de las manifestaciones clínicas iniciales y el conocimiento de las características microbiológicas. El cuadro de presentación de muchas infecciones incluye innumerables signos y síntomas focales y generales, y los casos típicos sugieren fuertemente el diagnóstico, aunque la enfermedad pudo haber sido causada por microorganismos diferentes. El arte de la medicina se funda en la elaboración del diagnóstico clínico que más tarde será confirmado por datos de laboratorio. El capítulo presente incluye 23 casos y comentarios breves del diagnóstico diferencial y el tratamiento de las infecciones.

Conviene que el lector consulte los primeros capítulos de este texto en busca de datos definitorios de los microorganismos; también el capítulo 47, para recabar información sobre las pruebas microbiológicas diagnósticas y revise obras de medicina e infectología para obtener información más completa de las entidades clínicas.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CASO 1: MENINGITIS

Una niña de tres años es llevada por sus padres al servicio de urgencias por presentar fiebre y falta de apetito en las últimas 24 h y dificultad para estar despierta, en las últimas 2 h. Los antecedentes de su desarrollo han sido normales desde su nacimiento; acudía a una guardería y mostró algunos episodios de supuestas infecciones virales similares a las de otros niños de la guardería. Sus vacunaciones estaban al corriente.

Manifestaciones clínicas

La temperatura de la paciente era de 39.5ºC, su pulso, de 130 lpm lpm y frecuencia respiratoria de 24/min. Su presión arterial era de 110/60 mm Hg.

La exploración física mostró a una niña con desarrollo, nutrición, talla y peso normales, aunque somnolienta. Al intentar la flexión pasiva del cuello, sus piernas también se flexionaron (signo de Brudzinski positivo que sugiere irritación de las meninges). El estudio oftalmoscópico no indicó la presencia de papiledema, lo cual denota que durante largo tiempo no había presentado hipertensión intracraneal. Los demás datos de la exploración física fueron normales.

Datos de laboratorio

Minutos después de su llegada, se tomó una muestra de sangre para practicar cultivos y otras pruebas de laboratorio, y se colocó un catéter intravenoso. En menos de 30 min del ingreso al servicio de urgencias se practicó punción lumbar. La presión de abertura fue de 350 mm de líquido cefalorraquídeo (LCR) (elevada). El líquido estaba turbio. Se llenaron varios tubos de LCR para cultivo, recuento celular y pruebas químicas. Un tubo fue llevado inmediatamente a laboratorio para practicar tinción de Gram. Dicha técnica indicó la presencia de innumerables células polimorfonucleares (PMN, *polymorphonuclear cells*) con diplococos gramnegativos intracelulares que sugerían *Neisseria meningitidis* (capítulo 20).

Los datos de la química sanguínea fueron normales, al igual que el valor de hematocrito. El recuento de leucocitos fue de 25 000 células/μl (muy elevado) y 88% eran formas de PMN, y el número absoluto de tales células era de 22 000/μl (muy elevado), 6% de linfocitos y 6% de monocitos. En el LCR se detectaron 5 000 PMN/μl (cifra normal, 0 a 5 linfocitos/μl). La concentración de proteínas en LCR fue de 100 mg/100 ml (elevada) y el de glucosa, 15 mg/100 ml (disminución o hipoglucorraquia), datos compatibles con meningitis bacteriana. En los cultivos de sangre y líquido cefalorraquídeo se detectó la proliferación de *N. meningitidis* del serogrupo B.

Tratamiento

Se inició la administración de cefotaxima por vía intravenosa dentro de los primeros 35 a 40 min del ingreso de la paciente; también se le administró dexametasona. El paciente respondió con rapidez y se trató con el antibiótico durante siete días. Se recuperó sin secuelas palpables. Se planearon estudios neurológicos y pruebas de audiometría adicionales para el futuro. Se administró rifampicina como profiláctico a los demás niños que acudían a la guardería.

Comentarios

Las manifestaciones clínicas de la meningitis bacteriana varían según la edad de los pacientes. En los niños de mayor edad y en los adultos, los signos y síntomas iniciales suelen incluir fiebre, cefalea, vómito, fotofobia, alteración del estado mental que varía

773

Las *correlaciones clínicas y de casos* guían al lector en la aplicación del material a situaciones del mundo real

_Caroll_4R.indd x 15/04/16

*Éstas son algunas de las razones por las cuales la *Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg* es esencial para la preparación de los exámenes de certificación USMLE:

- Más de 650 preguntas de repaso tipo USMLE
- Más de 300 cuadros e ilustraciones complementarias
- Veintitrés casos de estudio que agudizan las habilidades de los estudiantes en la aplicación del diagnóstico diferencial y tratamiento
- Lista de fácil comprensión sobre los microorganismos médicos más importantes
- Alcance de conocimiento que refleja las últimas técnicas en las tecnologías de laboratorio y diagnóstico
- Imágenes y micrografías a todo color
- Resúmenes al final de cada capítulo
- Revisiones de capítulo

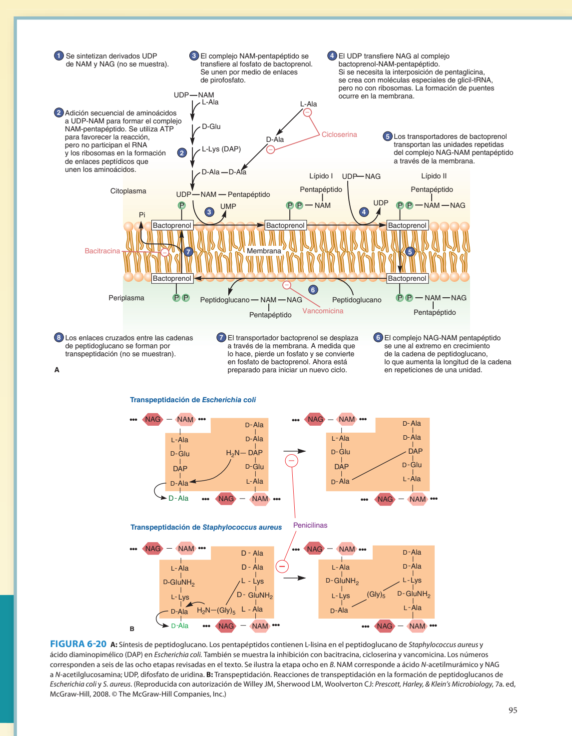


FIGURA 6-20 **A:** Síntesis de peptidoglucano. Los pentapéptidos contienen L-lisina en el peptidoglucano de *Staphylococcus aureus* y ácido diaminopimélico (DAP) en *Escherichia coli*. También se muestra la inhibición con bacitracina, cicloserina y vancomicina. Los números corresponden a seis de las ocho etapas revisadas en el texto. Se ilustra la etapa ocho en *B*. NAM corresponde a ácido *N*-acetilmurámico y NAG a *N*-acetilglucosamina; UDP, difosfato de uridina. **B:** Transpeptidación. Reacciones de transpeptidación en la formación de peptidoglucanos de *Escherichia coli* y *S. aureus*. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7a. ed, McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

95

Diagramas que resumen lo expresado en el texto



296 SECCIÓN III Bacteriología

de gota o microesfera, y a veces formas cocoides o esféricas. *Propionibacterium acnes,* a menudo considerado un microorganismo patógeno oportunista, produce la enfermedad del acné vulgar y se relaciona con diversos trastornos inflamatorios. Este microorganismo causa acné cuando produce lipasas que desdoblan ácidos grasos libres fuera de los lípidos de la piel. Estos ácidos grasos pueden producir inflamación del tejido que contribuye a la formación del acné. Además, *P. acnes* suele ser una causa de infecciones posoperatorias de heridas quirúrgicas, sobre todo las que implican la inserción de dispositivos, por ejemplo, infecciones de prótesis articulares, en particular del hombro, infecciones de derivaciones del sistema nervioso central, osteomielitis, endocarditis y endoftalmitis. Puesto que es parte de la microflora cutánea habitual, *P. acnes* a veces contamina los cultivos de sangre o líquido cefalorraquídeo que se obtienen al penetrar la piel. Por lo tanto, es importante (pero a menudo difícil) distinguir un cultivo contaminado de uno que es positivo y que indica infección.

3. *Clostridium.* Los clostridios son bacilos grampositivos, formadores de esporas (capítulo 11).

B. Cocos grampositivos

El grupo de los cocos grampositivos anaerobios ha experimentado una expansión taxonómica muy importante. Muchas especies de *Peptostreptococcus* fueron reasignadas a nuevos géneros como *Anaerococcus, Finegoldia* y *Peptoniphilus*. Las especies que contienen estos géneros, al igual que *Peptococcus niger,* son miembros importantes de la microflora habitual de la piel, la cavidad bucal, las vías respiratorias altas, el tubo digestivo y el aparato genitourinario de la mujer. Los miembros de este grupo son microorganismos patógenos oportunistas y muy a menudo se detectan en infecciones mixtas, sobre todo de muestras que no se obtienen en forma meticulosa. Sin embargo, estos microorganismos se han relacionado con infecciones graves como abscesos cerebrales, infecciones pleuropulmonares, fascitis necrosante y otras infecciones profundas de la piel y los tejidos blandos, infecciones intraabdominales e infecciones del aparato genital femenino.

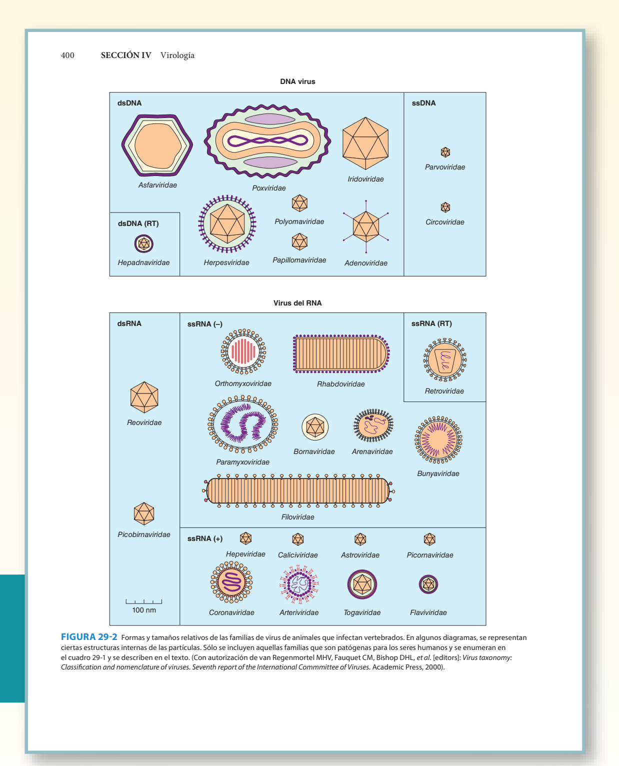
PATOGENIA DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

Las infecciones causadas por anaerobios suelen deberse a combinaciones de bacterias que funcionan en patogenicidad sinérgica. Aunque los estudios sobre la patogenia de las infecciones anaerobias a menudo se han centrado en una sola especie, es importante reconocer que las infecciones por anaerobios muy a menudo se deben a varias especies de estos últimos que actúan en conjunto para producir infección.

B. fragilis es un microorganismo patógeno muy importante entre los anaerobios que forman parte de la microflora habitual. La patogenia de la infección por anaerobios se ha estudiado en forma muy amplia con *B. fragilis* utilizando un modelo de rata de infección intraabdominal, que en muchos aspectos se parece a la enfermedad de los seres humanos. Se produce una secuencia característica después que se coloca contenido del colon (que incluye *B. fragilis* y un anaerobio

FIGURA 21-1 Especies del género *Actinomyces*. **A:** Colonia de especies de *Actinomyces* después de 72 h de cultivo en agar con infusión de cerebro y corazón, que por lo general produce colonias de casi 2 mm de diámetro; a menudo se les denomina colonias "de dientes molares". (Cortesía de CDC Public Health Image Library, L. Georg.) **B:** Gránulo de *Actinomyces* en tejido con tinción de Brown y Breen. Aumento original × 400. Los filamentos de los bacilos ramificados son visibles en la periferia del gránulo. Estos gránulos suelen denominarse "gránulos de azufre" debido a su color amarillo burdo no teñido. (Cortesía de CDC Public Health Image Library.) **C:** *Actinomyces naeslundii* en un absceso cerebral teñido con tinción con metilamina argéntica. Son visibles los bacilos ramificados. Aumento original × 1 000. (Cortesía de CDC Public Health Image Library, L. Georg.)

Imágenes a todo color que vuelven realidad los conceptos estudiados



400 SECCIÓN IV Virología

FIGURA 29-2 Formas y tamaños relativos de las familias de virus de animales que infectan vertebrados. En algunos diagramas, se representan ciertas estructuras internas de las partículas. Sólo se incluyen aquellas familias que son patógenas para los seres humanos y se enumeran en el cuadro 29-1 y se describen en el texto. (Con autorización de van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, *et al.* [editors]: *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Commmittee of Viruses.* Academic Press, 2000).

Estudio completo de los conceptos esenciales, como la *virología*

Prefacio

La vigésima séptima edición de *Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg* se mantiene fiel a los objetivos de la primera edición publicada en 1954, que tenían como meta proporcionar una presentación breve, precisa y actualizada de aquellos aspectos de la microbiología médica que son de particular importancia a los campos de infecciones clínicas y la quimioterapia.

Todos los capítulos se han revisado ampliamente, en consonancia con la tremenda expansión del conocimiento médico debido a los mecanismos moleculares, los avances en la comprensión de la patogenia microbiana y el descubrimiento de nuevos agentes patógenos. El capítulo 47, *Principios de diagnóstico médico microbiológico*, y el capítulo **48**, *Casos y correlaciones clínicas*, se han actualizado para reflejar el gran interés de los últimos años sobre los nuevos diagnósticos, así como de nuevos tratamientos contra las enfermedades infecciosas.

En esta edición colaboran Steve Miller, MD, PhD, y Jeffery Hobden, PhD. El Dr. Miller es el director médico del *San Francisco Clinical Microbiology Laboratory* de la Universidad de California, además de ser profesor asociado de medicina en el laboratorio clínico de la UCSF; el Dr. Miller aporta una amplia experiencia en virología. Por otra parte, el Dr. Hobden es profesor asociado en el departamento de Microbiología, Inmunología y Parasitología de la *Louisiana State University Health Sciences Center*, Nueva Orleans, Louisiana; su interés se centra en los patógenos bacterianos, en particular *Pseudomonas aeruginosa*. Damos la bienvenida a la participación de ambos.

Los autores esperamos que los cambios en esta edición sean de gran ayuda para los estudiantes de microbiología.

_Caroll_4R.indd xii 15/04/16

SECCIÓN I FUNDAMENTOS DE MICROBIOLOGÍA

CAPÍTULO 1

La ciencia de la microbiología

INTRODUCCIÓN

La microbiología es el estudio de los microorganismos, un grupo grande y diverso de organismos microscópicos que vive en forma de células aisladas o en grupos de ellas; también comprende a los virus, que son organismos microscópicos, pero que carecen de estructuras celulares. Los microorganismos tienen un enorme impacto en la vida y en la composición física y química de nuestro planeta. Los microorganismos se encargan de llevar a cabo ciclos de elementos químicos indispensables para la vida, tales como los ciclos del carbono, nitrógeno, azufre, hidrógeno y oxígeno; los microorganismos realizan más fotosíntesis que las plantas. Además, los océanos contienen 100 millones más bacterias (13×10^{28}) que las estrellas que contiene el universo conocido. La frecuencia de infecciones virales en los océanos es de aproximadamente 1×10^{23} infecciones por segundo, y estas infecciones eliminan de 20 a 40% de las células bacterianas diariamente. Se calcula que en la tierra existen 5×10^{30} células microbianas; excluyendo a la celulosa, éstas constituyen el 90% de la biomasa de toda la biosfera. Los seres humanos también tienen una relación cercana con los microorganismos; más del 90% de las células de nuestros cuerpos corresponde a microbios. Las bacterias del intestino del ser humano promedio pesan alrededor de 1 kg y un adulto excretará su propio peso en bacterias fecales cada año. El número de genes contenidos dentro de la flora intestinal es 150 veces mayor que el contenido en el genoma e, incluso en nuestro propio genoma, 8% del DNA proviene de los vestigios de genomas virales.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS ILUSTRADOS POR LA MICROBIOLOGÍA

En ninguna otra parte es más evidente la **diversidad biológica** que en los microorganismos, seres que no pueden observarse a simple vista sin ayuda de un microscopio. En cuanto a su forma y función, ya sea una propiedad bioquímica o un mecanismo genético, el análisis de los microorganismos conduce a los límites de la comprensión biológica. Por lo tanto, la necesidad de **originalidad** (una prueba del mérito de una **hipótesis** científica) puede satisfacerse por completo en la microbiología. Una hipótesis útil debe ofrecer una base para hacer una **generalización** y la diversidad microbiana proporciona el terreno donde siempre se da este desafío.

La **predicción**, que es la consecuencia práctica de la ciencia, es un producto creado por una mezcla de técnica y teoría. La **bioquímica**, **biología molecular** y **genética** ofrecen los recursos necesarios para el análisis de los microorganismos. A su vez, la **microbiología** amplía el horizonte de estas disciplinas científicas. Quizá un biólogo describiría este intercambio como **mutualismo**, esto es, algo que beneficia a todos los participantes. Un ejemplo de mutualismo microbiano es el de los líquenes. Los líquenes constan de un hongo y un compañero fototrópico, ya sea un alga (eucariota) o una cianobacteria (procariota) (figura 1-1). El componente fototrópico es el productor principal, en tanto que el hongo proporciona sujeción y protección de los elementos. En biología, el mutualismo se denomina **simbiosis**, que es una relación continua de distintos organismos. Cuando el intercambio opera principalmente en beneficio de una de las partes, la relación se describe como **parasitismo**, en la que el **hospedador** proporciona el beneficio principal al parásito. Para el aislamiento y clasificación de un parásito (p. ej., una bacteria o virus patógenos) a menudo es necesario simular en el laboratorio el ambiente de proliferación que ofrecen las células hospedadoras. Este requisito en ocasiones representa una dificultad importante para el investigador.

Los términos *mutualismo*, *simbiosis* y *parasitismo* se relacionan con la ciencia de la **ecología**, y los principios de la biología ambiental se encuentran implícitos en la microbiología. Los microorganismos son productos de la **evolución**, que es la consecuencia biológica de la **selección natural** que actúa en

apter 01_Carroll_4R.indd 1 14/04/16

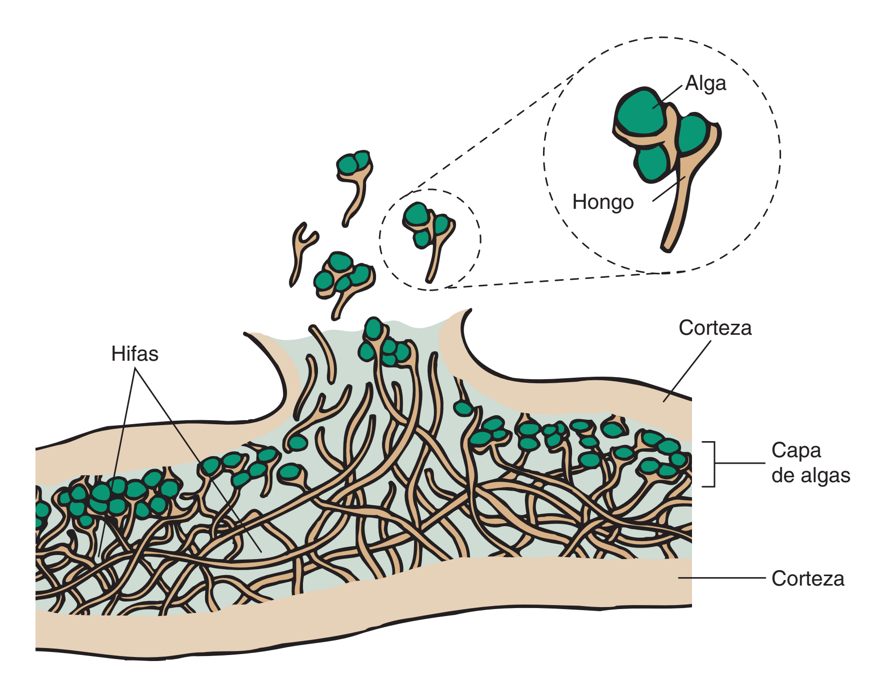


FIGURA 1-1 Diagrama de un liquen, que consiste en células fototrofas, ya sea un alga o una cianobacteria, entrelazadas con hifas de un hongo con el que establece simbiosis (Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT (editores): *Microbiology: A Human Perspective*, 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 293).

una gran variedad de microorganismos distintos en términos genéticos. Vale la pena tener en mente la complejidad de la historia natural antes de generalizar sobre los microorganismos, que forman el subgrupo más heterogéneo de las criaturas vivientes.

Una división biológica importante separa a los eucariotas, microorganismos que contienen núcleo rodeado de una membrana, de las procariotas, en los que el DNA no está separado físicamente del citoplasma. Como se describirá más adelante y en el capítulo 2, se pueden hacer más diferenciaciones entre las células eucariotas y procariotas. Por ejemplo, las primeras se distinguen por su tamaño relativamente grande y la presencia de organelos especializados, rodeados de membranas como las mitocondrias.

Como se describe con detalle más adelante, las células eucariotas (o Eukarya, en términos filogenéticos) comparten su estructura celular característica e historia filogenética. Algunos grupos de microorganismos eucarióticos son **algas**, **protozoarios**, **hongos** y **mohos**.

VIRUS

Las propiedades exclusivas de los virus los colocan en un sitio aparte de los demás seres vivos. Los virus carecen de muchos de los atributos de las células, como la capacidad de multiplicarse. Sólo cuando infectan una célula adquieren la característica esencial de un sistema viviente: la reproducción. Se sabe que los virus infectan cualquier célula, incluidas las células microbianas. En fecha reciente, se descubrió que los virus llamados **virófagos** infectan a otros virus. Las interacciones entre hospedador y virus tienden a ser muy específicas y la variedad biológica de los virus es un reflejo de la diversidad de células hospedadoras potenciales. La mayor diversidad de virus se expresa en su amplia variedad de estrategias de replicación y supervivencia.

Las partículas virales por lo general son pequeñas (p. ej., el adenovirus mide 90 nm) y constan de una molécula de ácido nucleico, ya sea DNA o RNA, contenida en una capa proteínica o cápside viral (que algunas veces también se encuentra contenida en una envoltura de lípidos, proteínas y carbohidratos). Las proteínas, a menudo glucoproteínas, de la cápside determinan la especificidad de la interacción del virus con su célula hospedadora. La cápside protege al ácido nucleico y facilita la fijación y penetración del virus en la célula hospedadora. En el interior de la célula, el ácido nucleico viral redirige la maquinaria enzimática del hospedador hacia funciones que tienen que ver con la replicación viral. En algunos casos, la información genética del virus se incorpora en forma de DNA en el cromosoma del hospedador. En otros, la información genética del virus sirve como base para la producción celular y liberación de copias del virus. Este proceso exige la replicación del ácido nucleico viral y la producción de proteínas virales específicas. La **maduración** consiste en armar subunidades recién sintetizadas de ácido nucleico y proteínas hasta formar partículas virales maduras, que luego son liberadas en el ambiente extracelular. Algunos virus muy pequeños necesitan la ayuda de otro virus en la célula hospedadora para su replicación. El elemento delta, también conocido como virus de la hepatitis D, es demasiado pequeño como para codificar incluso una sola proteína de la cápside y necesita ayuda del virus de la hepatitis B para su transmisión. Se sabe que los virus infectan una gran variedad de hospedadores tanto vegetales como animales, así como protistas, hongos y bacterias. Sin embargo, la mayor

parte de los virus puede infectar tipos específicos de células de una sola especie de hospedador.

Algunos virus son grandes y complejos. Por ejemplo, el Mimivirus, un virus DNA que infecta a *Acanthamoeba,* una ameba de vida libre, tiene un diámetro de 400 a 500 nm y un genoma que codifica 979 proteínas, incluidas las primeras cuatro aminoacil tRNA sintetasas que se encontraron fuera de los organismos celulares y enzimas para la biosíntesis de polisacáridos. En fecha reciente se descubrió un virus marino incluso más grande (Megavirus); su genoma (1 259 197-bp) codifica 1 120 supuestas proteínas y es más grande que algunas bacterias (cuadro 7-1). Por su gran tamaño, estos virus son similares a bacterias si se observan en preparaciones de tinciones por microscopia de luz; sin embargo, no experimentan división celular ni contienen ribosomas.

Algunas enfermedades transmisibles de las plantas son causadas por **viroides**, moléculas pequeñas de RNA monocatenario y circular con enlaces covalentes estrechos que existen en forma de estructuras similares a bastones con numerosos pares de bases. Su tamaño varía de 246 a 375 nucleótidos de longitud. La forma extracelular del viroide es RNA desnudo; no hay ninguna clase de cápside. La molécula de RNA no contiene genes que codifican proteínas y, por lo tanto, el viroide depende por completo de las funciones del hospedador para su replicación. El RNA del viroide se multiplica por medio de la RNA polimerasa dependiente de DNA de la planta hospedadora; la función de esta enzima quizá contribuye a la patogenia del viroide.

Se ha demostrado que los RNA de los viroides contienen secuencias de bases repetidas invertidas en sus extremos 3′ y 5′, característica de los transposones (capítulo 7) y de los retrovirus. Por eso, es probable que hayan evolucionado de transposones o retrovirus por la eliminación de secuencias internas.

En el capítulo 29 se describen las propiedades generales de los virus animales patógenos para el ser humano. Los virus bacterianos se describen en el capítulo 7.

PRIONES

Varios descubrimientos destacados en los últimos 30 años permitieron la clasificación tanto molecular como genética del microorganismo transmisible que causa la **encefalopatía espongiforme ovina**, enfermedad degenerativa del sistema nervioso central de las ovejas. En los estudios ha sido posible identificar la proteína asociada con esta enfermedad en preparaciones obtenidas de cerebro de ovejas con esta encefalopatía y, además, se logró reproducir los síntomas de la enfermedad en ovejas sanas (figura 1-2). Los esfuerzos por identificar otros componentes, como ácidos nucleicos, no han tenido éxito. Con el fin de diferenciarlo de los virus y viroides, se introdujo el término **prion** para subrayar su naturaleza proteínica e infecciosa. La forma celular de la proteína priónica (PrP^c) es codificada por el DNA cromosómico del hospedador. La PrP^c es una sialoglucoproteína con un peso molecular de 33 000 a 35 000 daltons y un alto contenido de una estructura secundaria α-helicoidal que es sensible a las proteasas y soluble en detergente. La PrP^c se expresa en la superficie de las neuronas a través del anclaje de glucosil fosfatidilinositol en encéfalos tanto infectados como no infectados. La proteína prion sufre un cambio de configuración que la transforma de su forma normal o celular PrP^c a una configuración patógena, PrP^{Sc} (figura 1-3). Cuando un individuo tiene PrP^{Sc} (debido a la conversión espontánea de la configuración o a infección), ésta puede reclutar PrP^c y convertirla en la variedad patógena. Por eso, para replicarse, los priones utilizan el sustrato PrP^c presente en el hospedador.



FIGURA 1-2 Prion. Priones aislados del cerebro de un hámster infectado con el agente de la encefalopatía espongiforme ovina. Esta enfermedad neurodegenerativa es causada por un prion. (Reimpresa con autorización de Stanley B. Prusiner.)

Hay otras enfermedades importantes causadas por priones (cuadro 1-1 y capítulo 42). El kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD, *Creutzfeldt-Jakob disease),* la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar letal afectan a los seres humanos. La encefalopatía espongiforme ovina, que se cree que es resultado de la ingestión de alimento para ganado y harina de huesos preparados con residuos de animales del matadero, ha causado la muerte de más de 184 000 cabezas de ganado en Gran Bretaña desde que se descubrió en 1985. Una nueva variedad de CJD (vCJD) en seres humanos, se ha vinculado con la ingestión de carne de res infectada por priones en el Reino Unido y Francia. Una característica común de todas estas enfermedades es la conversión de una sialoglucoproteína codificada por el hospedador en una forma resistente a la proteasa como consecuencia de la infección.

Las enfermedades por priones en los seres humanos son singulares porque se manifiestan en forma de enfermedades esporádicas, genéticas e infecciosas. El estudio de la biología de los priones constituye una nueva e importante área de investigación biomédica, de lo cual falta mucho por aprender.

En el cuadro 1-2 aparecen las características distintivas de los integrantes no vivientes del mundo microbiano.

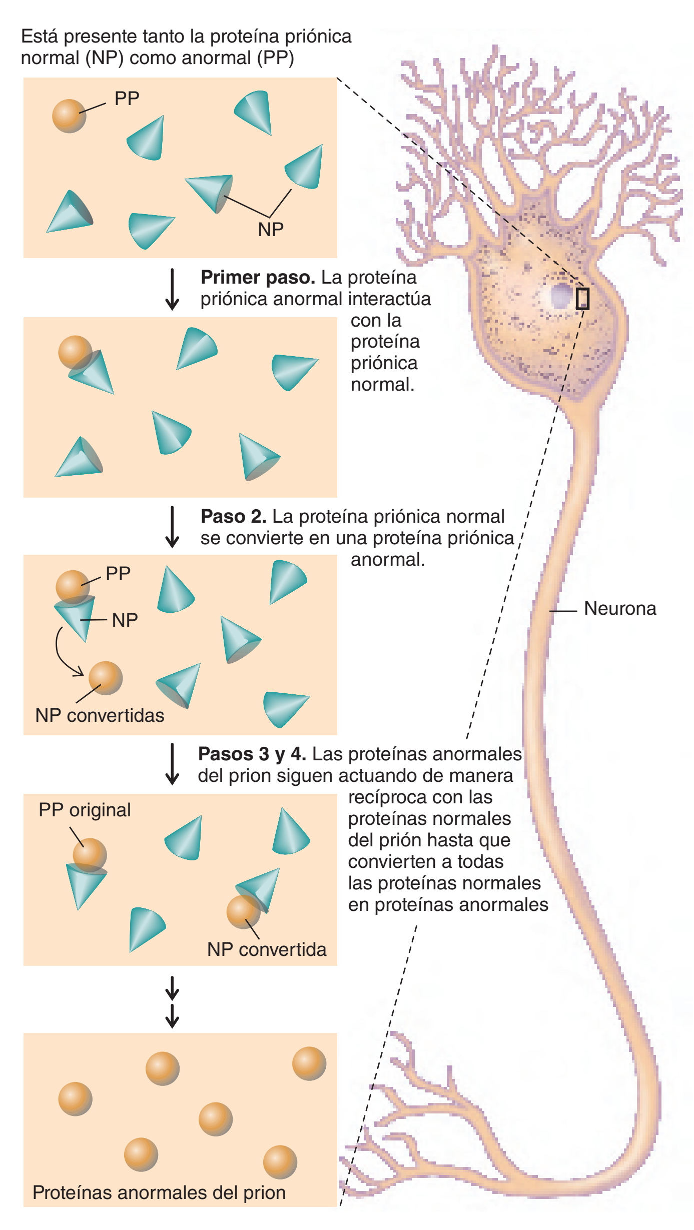


FIGURA 1-3 Mecanismo propuesto por medio del cual se replican los priones. Las proteínas normales y anormales del prion difieren en su estructura terciaria. (Reimpresa con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MR (editores): *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 342).

PROCARIOTAS

Las características principales que distinguen a las procariotas son su tamaño relativamente pequeño, casi siempre del orden de 1 μm de diámetro y la ausencia de una membrana nuclear. El DNA de casi todas las bacterias es circular con una longitud aproximada de 1 mm, que constituye el cromosoma bacteriano. La mayor parte de las células procariotas tiene un solo cromosoma. El DNA cromosómico se debe doblar más de 1 000 veces para acomodarse dentro de la membrana celular procariótica. Hay muchos datos que sugieren que quizá estos dobleces se realizan en forma ordenada, con lo que acercan ciertas regiones del DNA. La región especializada de la célula que contiene al DNA se denomina **nucleoide** y se puede observar con un microscopio electrónico o un microscopio de luz después de someter a la célula a un tratamiento especial para hacerlo visible. Por lo tanto, sería un error concluir que la diferenciación subcelular, delimitada en forma clara por membranas en las eucariotas, no existe en las procariotas. De hecho, las procariotas en algunos casos forman estructuras subcelulares unidas a membranas con funciones especializadas, como los cromatóforos de las bacterias fotosintéticas (capítulo 2).

Diversidad procariótica

El tamaño pequeño del cromosoma procariótico limita la cantidad de información genética que puede contener. La información más reciente basada en las secuencias del genoma indica que el número de genes dentro de una célula procariota varía de 468 en *Mycoplasma genitalium* a 7 825 en *Streptomyces coelicolor* y que muchos de estos genes tienen que dedicarse a funciones esenciales, como generación de energía, síntesis de macromoléculas y replicación celular. Las procariotas poseen relativamente pocos genes que permiten la adaptación fisiológica del microorganismo a su ambiente. La variedad de ambientes procarióticos potenciales es increíblemente amplia, por lo que las procariotas comprenden una categoría heterogénea de microorganismos especializados, cada uno adaptado a un entorno circunscrito bastante reducido.

Se puede apreciar la variedad de ambientes procarióticos si se piensa en las estrategias utilizadas para generar energía metabólica. La principal fuente de energía para la vida es la luz solar. Algunas procariotas, como las bacterias púrpuras, convierten la energía lumínica en energía metabólica sin producción de oxígeno. Otras, como las bacterias verde-azules (**cianobacterias**) producen oxígeno que proporciona energía a través de la respiración en ausencia de luz. Los **microorganismos aerobios** dependen de la respiración en presencia de oxígeno para obtener energía. Algunos **microorganismos anaerobios** utilizan aceptores de electrones distintos del oxígeno en la respiración. Muchos anaerobios llevan a cabo **fermentaciones**, de donde obtienen la energía mediante la reorientación metabólica de los sustratos químicos para el crecimiento. La gran variedad química de sustratos potenciales para el crecimiento tanto aerobio como anaerobio se refleja en la diversidad de los procariotas que se han adaptado a su aprovechamiento.

Comunidades procarióticas

Una estrategia útil de supervivencia para los microorganismos especializados es pertenecer a **consorcios**, organizaciones en las que las características fisiológicas de los diferentes organismos contribuyen a la supervivencia del grupo en su conjunto. Si los microorganismos dentro de una comunidad interrelacionada desde el punto de vista físico se derivan directamente de una sola célula, la comunidad es un **clon** que puede contener hasta 10^8 células. La biología de esta comunidad difiere mucho de la de una sola célula. Por ejemplo, el gran número de células prácticamente asegura que en el clon existe cuando menos una célula que posee una variante de cualquier gen en el cromosoma. Por lo tanto, la variabilidad genética (la fuente del proceso evolutivo llamado selección natural) se encuentra

CUADRO 1-1 Principales enfermedades en seres humanos y animales causadas por priones

Tipo	Nombre	Causa
Enfermedades por priones en seres humanos		
Adquiridas	Variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob[a]	Asociada con la ingestión o inoculación de material infectado por priones
	Kuru	
	Enfermedad iatrógena de Creutzfeldt-Jakob[b]	
Esporádicas	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Se desconoce el origen de la infección
Familiares	Gerstmann-Sträussler-Scheinker	Asociadas con mutaciones específicas dentro del gen que codifica PrP
	Insomnio familiar letal	
	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	
Enfermedades por priones en animales		
Ganado vacuno	Encefalopatía espongiforme bovina	Contacto con carne y alimento de harina de hueso contaminados con priones
Ovejas	Encefalopatía espongiforme ovina	Ingestión de material contaminado con encefalopatía espongiforme ovina
Venados, alces	Enfermedad por consunción crónica	Ingestión de material contaminado con priones
Visón	Encefalopatía transmisible del visón	Se desconoce la fuente de la infección
Gatos	Encefalopatía espongiforme felina[a]	Exposición a carne y alimento de harina de hueso contaminado con priones

PrP, proteína priónica.

[a] Vinculado con el contacto con materiales contaminados por encefalopatía espongiforme bovina.

[b] Vinculado con materiales biológicos contaminados por priones como injerto de duramadre, trasplante de córnea, hormona del crecimiento humana derivada de cadáver o instrumentos quirúrgicos contaminados por priones.

Reimpreso con autorización de American Society for Microbiology. Priola SA: How animal prions cause disease in humans. Microbe 2008;3(12):568.

asegurada en el interior de un clon. También es probable que el alto número de células dentro de los clones ofrezca protección fisiológica cuando menos a algunos integrantes del grupo. Por ejemplo, los polisacáridos extracelulares confieren protección contra algunos elementos potencialmente letales, como los antibióticos o iones de metales pesados. La gran cantidad de polisacáridos producidos por el gran número de células dentro de un clon permite que las células que están en el interior sobrevivan al contacto con un elemento letal a una concentración que aniquilaría a células individuales.

Muchas bacterias utilizan un mecanismo de comunicación intercelular llamado **quórum sensing** o **sensor de quórum** que regula la transcripción de los genes que participan en diversos procesos fisiológicos, como bioluminiscencia, transferencia de plásmidos conjugativos y producción de los factores determinantes de virulencia. La percepción del quórum depende de la producción de una o más moléculas de señalización difusibles (p. ej., lactona acetilada de hemosiderina [AHL], denominadas **autoinductores** o **feromonas** que permiten que las bacterias vigilen su propia densidad poblacional (figura 1-4). Las actividades de cooperación que conducen a la formación de una **bioplaca** son controladas por la percepción del quórum. Es un ejemplo de conducta multicelular en procariotas.

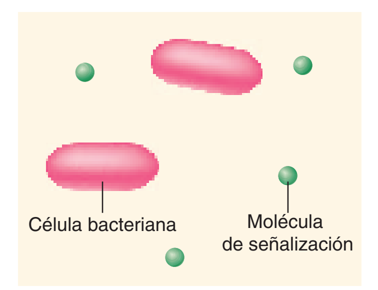
Una característica que distingue a las procariotas es su capacidad de intercambio de pequeños paquetes de información genética. Esta información es llevada en los **plásmidos**, elementos genéticos pequeños y especializados que se pueden multiplicar en el interior de cuando menos una línea celular procariótica. En algunos casos, los plásmidos se transfieren de una célula a otra y, por lo tanto, llevan consigo grupos de información genética especializada a través de una población. Algunos plásmidos exhiben un **espectro amplio de hospedadores** que les permite transmitir grupos de genes a distintos microorganismos. Algunos que despiertan preocupación particular son los **plásmidos de resistencia farmacológica**, que inducen resistencia bacteriana al tratamiento con antimicrobianos.

La estrategia de supervivencia de una sola línea celular procariótica conduce a una variedad de interacciones con otros microorganismos. Éstas comprenden relaciones simbióticas que llevan a complejos intercambios nutricionales entre los microorganismos dentro del intestino humano. Estos intercambios benefician tanto a los microorganismos como a sus hospedadores humanos. Algunas veces las interacciones parasitarias son nocivas para el hospedador. La simbiosis o el parasitismo avanzado provocan la pérdida de ciertas funciones

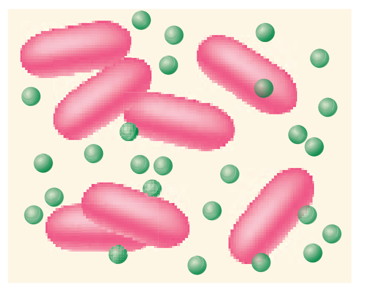
CUADRO 1-2 Características distintivas de los virus, viroides y priones

Virus	Viroides	Priones
Microorganismos intracelulares obligados	Microorganismos intracelulares obligados	Forma anormal de una proteína celular
Constan de DNA o RNA rodeado por una cápside proteínica	Constan sólo de RNA; no tienen cápside proteínica	Constan sólo de proteínas; sin DNA ni RNA

Reimpreso con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT (editores): *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 13.



Cuando hay pocas células, la concentración de la molécula de señalización lactona acetilada de hemosiderina (AHL) es baja.



Cuando hay muchas células, la concentración de AHL es alta. Las concentraciones altas de AHL inducen la expresión de genes específicos.

FIGURA 1-4 Percepción del quórum. (Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT (editores): *Microbiology: A Human Perspective*, 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 181).

que no permiten el crecimiento del simbionte o parásito independientemente de su hospedador.

Por ejemplo, los **micoplasmas** son parásitos procariotas, que han perdido la capacidad de sintetizar una pared celular. La adaptación de estos microorganismos a su ambiente parasitario ha tenido como resultado la incorporación de una cantidad importante de colesterol en sus membranas celulares. El colesterol, que no se observa en otras procariotas, es asimilado del ambiente metabólico del hospedador. La pérdida de la función también se ejemplifica con los parásitos intracelulares obligados, las **clamidias** y las **rickettsias**. Estas bacterias son muy pequeñas (0.2 a 0.5 μm de diámetro) y dependen de una célula hospedadora que les suministra metabolitos esenciales y coenzimas. Esta pérdida de la función se refleja por la presencia de un cromosoma más pequeño con muy pocos genes (cuadro 7-1).

Los mejores ejemplos de simbiontes bacterianos son los cloroplastos y las mitocondrias, que son los organelos especializados en la producción de energía de las eucariotas. Numerosos datos indican que los antecesores de estos organelos eran **endosimbiontes**, es decir, procariotas que establecieron simbiosis dentro de la membrana celular de un hospedador eucariótico ancestral. La presencia de múltiples copias de los organelos quizá contribuyó al tamaño relativamente grande de las células eucarióticas y a su potencial de especialización, rasgo que finalmente se ha reflejado en la evolución de los microorganismos multicelulares diferenciados.

Clasificación de las procariotas

Para comprender cualquier grupo de microorganismos, es necesario hacer una **clasificación**. Un buen sistema de clasificación permite al científico elegir las características con las que se puede catalogar con rapidez y exactitud cualquier microorganismo nuevo. La categorización permite pronosticar muchos rasgos adicionales que comparten otros integrantes de la misma categoría. En el ámbito hospitalario, la clasificación correcta de un microorganismo patógeno ofrece la vía más directa para eliminarlo. Asimismo, la clasificación permite comprender mejor las relaciones entre diferentes microorganismos y esta información tiene un gran valor práctico. Por ejemplo, un microorganismo patógeno se podrá eliminar por un tiempo relativamente largo si su hábitat es ocupado por una variedad no patógena.

En el capítulo 3 se describen los principios de la clasificación procariótica. Para empezar, es importante reconocer que cualquier característica procariótica puede servir como criterio potencial de clasificación. Sin embargo, no todos los criterios son tan efectivos para agrupar microorganismos. Por ejemplo, que contenga DNA constituye un criterio inútil para distinguir los microorganismos puesto que todas las células lo contienen. La presencia de un plásmido con un espectro amplio de hospedadores no es un criterio útil porque estos plásmidos existen en distintos hospedadores y no es necesario que existan todo el tiempo. Los criterios útiles pueden ser estructurales, fisiológicos, bioquímicos o genéticos. Las **esporas**, estructuras celulares especializadas que permiten la supervivencia en ambientes extremos, son criterios estructurales útiles para la clasificación porque solo subgrupos bien clasificados de bacterias forman esporas. Algunos grupos de bacterias se pueden subdividir con base en su potencial para fermentar ciertos carbohidratos. Estos criterios son poco efectivos cuando se aplican a otros grupos bacterianos que carecen de potencial de fermentación. Existe una prueba bioquímica, la **tinción de Gram**, que constituye un criterio efectivo de clasificación porque la respuesta a la tinción refleja diferencias fundamentales y complejas en la superficie celular bacteriana que dividen a la mayor parte de las bacterias en dos grupos principales.

Los criterios genéticos cada vez se utilizan más en la clasificación bacteriana y muchos de estos adelantos han sido posibles gracias al desarrollo de tecnologías basadas en DNA. En la actualidad es posible diseñar sondas de DNA o realizar análisis de amplificación del DNA (p. ej., reacción en cadena de la polimerasa [PCR, *polymerase chain reaction*]) que identifican con rapidez microorganismos que poseen regiones genéticas específicas con un linaje común. Al comparar las secuencias del DNA de algunos genes se pudieron conocer las **relaciones filogenéticas** entre las procariotas. Es posible encontrar los linajes celulares ancestrales y agrupar a los microorganismos con base en sus afinidades evolutivas. Estas investigaciones condujeron a conclusiones sorprendentes. Por ejemplo, la comparación de las secuencias del citocromo c sugiere que todos los organismos eucariotas, incluidos los seres humanos, se originaron a partir de uno de tres grupos de bacterias fotosintéticas púrpuras. Esta

conclusión explica en parte el origen evolutivo de las eucariotas, pero no tiene en cuenta por completo la opinión generalizada de que la célula eucariótica se derivó de la fusión evolutiva de distintas líneas celulares procarióticas.

Bacterias y arqueobacterias: subdivisiones principales dentro de las procariotas

Un logro importante en la filogenia molecular ha sido demostrar que las procariotas pertenecen a uno de dos grupos principales. La mayor parte de las investigaciones se ha orientado hacia un grupo, las bacterias. El otro grupo, las arqueobacterias, ha recibido menos atención hasta hace poco, en parte a causa de que muchos de sus representantes son difíciles de estudiar en el laboratorio. Por ejemplo, algunas arqueobacterias mueren al contacto con el oxígeno y otras crecen a una temperatura que excede la del agua en ebullición. Antes de contar con datos moleculares, los principales subgrupos de arqueobacterias parecían diferentes. Las metanógenas llevan a cabo una respiración anaerobia que genera metano; las halófilas necesitan una concentración muy alta de sal para crecer; y las termoacidófilas necesitan una temperatura alta y gran acidez. Ahora se sabe que estas procariotas comparten rasgos bioquímicos como la pared celular o los componentes de la membrana que las colocan en un grupo completamente aparte del de los demás microorganismos vivos. Un rasgo intrigante que comparten las arqueobacterias y eucariotas es la presencia de **intrones** en el interior de los genes. No se ha establecido la función de los intrones (segmentos de DNA que interrumpen al DNA codificante dentro de los genes). Lo que se sabe es que los intrones representan una característica fundamental que comparte el DNA de las arqueobacterias y eucariotas. Este rasgo común ha originado la hipótesis de que, al igual que las mitocondrias y cloroplastos parecen ser derivados evolutivos de las bacterias, el núcleo eucariótico se originó a partir de una arqueobacteria antecesora.

PROTISTAS

El "núcleo verdadero" de las eucariotas (del griego *karyon,* "núcleo") constituye sólo una de sus características distintivas. Los organelos adheridos a la membrana, los microtúbulos y los microfilamentos de las eucariotas forman una estructura intracelular compleja distinta a la observada en las procariotas. Los elementos para la movilidad de las células eucarióticas son flagelos o cilios (estructuras complejas formadas por múltiples filamentos que difieren de los flagelos de las procariotas). La expresión génica en las eucariotas se lleva a cabo a través de una serie de eventos que logran la integración fisiológica del núcleo con el retículo endoplásmico, estructura que carece de contraparte en las procariotas. Las eucariotas forman un grupo aparte por la organización de su DNA celular en forma de cromosomas separados por un aparato mitótico distinto durante la división celular.

En general, la transferencia genética entre las eucariotas depende de la fusión de los **gametos haploides** para formar una célula **diploide** que contiene un conjunto completo de genes derivados de cada gameto. El ciclo de vida de muchas eucariotas se lleva a cabo casi por completo en estado diploide, cualidad de la que carecen las procariotas. La fusión de los gametos para formar su progenie reproductiva constituye una función altamente específica y establece la base de la **especie** eucariótica. Este término se puede aplicar solo en forma metafórica para las procariotas, que intercambian fragmentos de DNA a través de recombinación. Los grupos taxonómicos de las eucariotas a menudo se basan en una serie de **propiedades morfológicas** compartidas y es importante señalar que muchos de los factores taxonómicos tienen que ver con la reproducción. Casi todas las especies eucarióticas exitosas son aquellas en las que las células afines, miembros de la misma especie, se pueden recombinar para formar descendencia viable. Las estructuras que contribuyen de manera directa o indirecta al proceso de la reproducción tienden a ser muy avanzadas y están ampliamente conservadas, con modificaciones mínimas entre las especies afines.

Las eucariotas microbianas (**protistas**) son miembros de cuatro grupos principales: algas, protozoarios, hongos y mohos. Es importante señalar que estos grupos no son necesariamente filogenéticos: algunos microorganismos afines se han clasificado por separado porque aún no se encuentran similitudes bioquímicas y genéticas de fondo.

Algas

El término *alga* se utiliza desde hace tiempo para referirse a los microorganismos que producen O_2 como producto de la fotosíntesis. Un subgrupo importante de estos microorganismos, las bacterias verde-azules o cianobacterias, son procariotas y ya no se llaman algas. Esta clasificación se reserva de manera exclusiva para los microorganismos eucariotas fotosintéticos. Todas las algas contienen clorofila en la membrana fotosintética de su cloroplasto intracelular. Muchas especies de algas son unicelulares. Otras algas forman estructuras multicelulares muy grandes. Los sargazos de algas cafés miden en ocasiones varios cientos de metros de longitud. Otras algas producen toxinas que son venenosas para el ser humano y otros animales. Los dinoflagelados, algas unicelulares, generan las mareas rojas en el océano (figura 1-5). La marea roja producida por el dinoflagelado de la especie *Gonyaulax* es importante porque este microorganismo produce neurotoxinas como **saxitoxina** y **gonyautoxinas**, que se acumulan en los mariscos (p. ej., almejas, mejillones, callo de hacha y ostiones) que se alimentan con este microorganismo. El consumo de estos mariscos produce **intoxicación paralítica por mariscos** que puede causar la muerte.

Protozoarios

Los protozoarios son organismos protistas unicelulares no fotosintéticos. Los protozoarios más primitivos son flagelados y se asemejan en muchos aspectos a algunos representantes de las algas. Es probable que los antecesores de estos protozoarios fueran algas que se tornaron **heterótrofas**; las necesidades alimentarias de estos microorganismos se satisfacen con compuestos orgánicos. La adaptación a un modo de vida heterótrofo en ocasiones se acompañó de pérdida de los cloroplastos y, por eso, las algas dieron origen a los protozoarios afines.

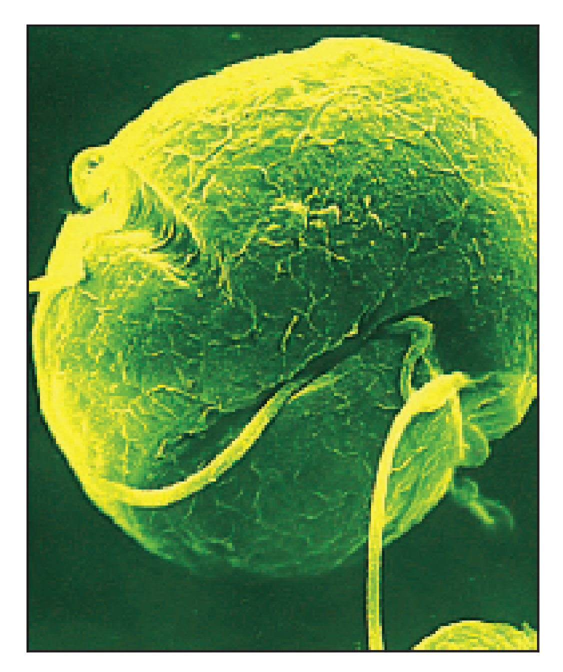


FIGURA 1-5 Microfotografía electrónica de un dinoflagelado *Gymnodinium* (4000×). (Reimpresa con autorización de David M. Phillips/Visuals Unlimited.)

Se han observado eventos similares en el laboratorio como resultado de una mutación o de una adaptación fisiológica.

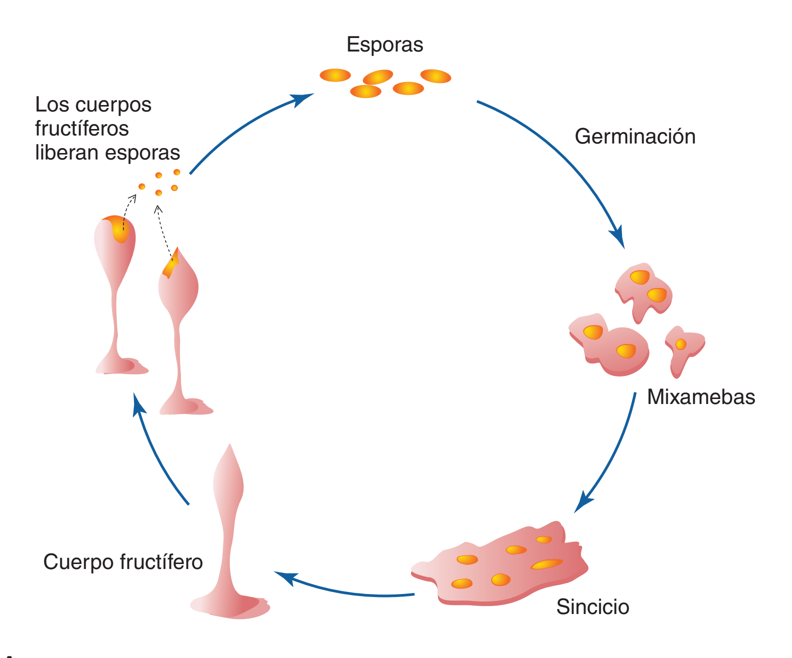
Al parecer, de los protozoarios flagelados surgieron las variedades ameboides y ciliadas; se sabe que algunas formas intermedias tienen flagelos durante una fase de su ciclo vital y seudópodos (característicos de la ameba) en otra fase. Un cuarto grupo de protozoarios, los esporozoarios, son parásitos estrictos que casi siempre son inmóviles; la mayor parte se reproduce de manera sexual y asexual en generaciones alternas por medio de esporas. En el capítulo 46 se describen los protozoarios parásitos del ser humano.

Hongos

Los hongos son protistas no fotosintéticos que crecen en forma de conjuntos de filamentos ramificados y entrelazados ("hifas") conocidos como **micelios**. El micelio micótico contiguo más grande que se conoce cubrió un área de 9.7 km^2 en una región situada en la zona este de Óregon. A pesar de que las hifas poseen paredes cruzadas, éstas tienen perforaciones que permiten el paso libre del núcleo y citoplasma. Por lo tanto, el microorganismo completo es un cenocito (aglomeración multinucleada de citoplasma continuo) confinado dentro de una serie de tubos ramificados. Estos tubos, elaborados con polisacáridos como quitina, son homólogos con las paredes celulares. Los hongos que poseen micelios se denominan **mohos**; algunos tipos de hongos denominados **levaduras** no forman micelios, pero se reconocen con facilidad como hongos por la naturaleza de su reproducción sexual y la presencia de formas de transición.

Es probable que los hongos representen una rama evolutiva de los protozoarios; no tienen relación con los actinomicetos, que son bacterias con micelios a las que se parecen superficialmente. Las subdivisiones principales (phyla) de los hongos son: Chytridiomycota, Zygomycota (zigomicetos), Ascomycota (ascomicetos), Basidiomycota (basidiomicetos) y los "deuteromicetos" (u hongos imperfectos).

La evolución de los ascomicetos a partir de los ficomicetos se observa en un grupo de transición, cuyos integrantes forman un cigoto que después se transforma en ascos. Se cree que los basidiomicetos provienen, a su vez, de los ascomicetos. La clasificación de los hongos y su importancia médica se describen en el capítulo 45.



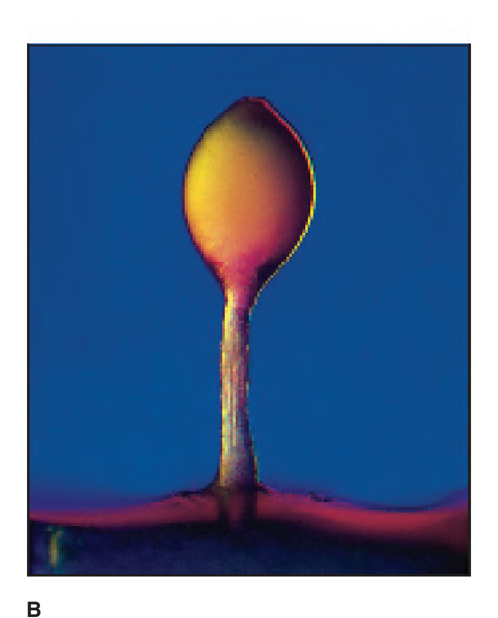


FIGURA 1-6 Mohos de fango. **A:** Ciclo de vida de un moho de fango acelular. **B:** Cuerpo fructífero de un moho de fango celular. (Reimpresa con autorización de Carolina Biological Supply/Phototake, Inc.)

Mohos de fango

Estos microorganismos se caracterizan por la presencia, durante una fase de su ciclo vital, de una masa multinucleada ameboide de citoplasma llamada **sincicio**. Este último de un moho de fango es análogo al micelio de un hongo verdadero. Ambos son cenocíticos. Mientras que en este último la circulación citoplásmica se confina a la red de tubos quitinosos, en el primero el citoplasma circula en cualquier dirección. Esta circulación provoca que el sincicio emigre en dirección de su fuente alimentaria, a menudo bacterias. En respuesta a una señal química, por ejemplo, 3′,5′-AMP cíclico (capítulo 7), el sincicio, que alcanza un tamaño macroscópico, se diferencia para formar un cuerpo con pedúnculo que produce células móviles individuales. Estas células, flageladas o ameboides, empiezan un nuevo ciclo de vida del moho de fango (figura 1-6). El ciclo a menudo empieza por la fusión sexual de células aisladas.

El ciclo vital de los mohos de fango ilustra un tema central de este capítulo: la interdependencia de las formas vivientes. El crecimiento de los hongos de fango depende de los nutrientes que proporcionan las bacterias o, en algunos casos, las células vegetales. La reproducción de los mohos de fango a través de sincicios depende del reconocimiento intercelular y la fusión de las células de la misma especie. Para comprender bien las características de un microorganismo es indispensable conocer los demás microorganismos con los que ha evolucionado y apreciar la variedad de respuestas fisiológicas que contribuyen a su supervivencia.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los microorganismos son un grupo grande y diverso de organismos que existen como células aisladas o agrupaciones; también incluyen los virus, que son microscópicos, pero carecen de características celulares.
- Un virus consta de una molécula de ácido nucleico, ya sea DNA o RNA, contenida en una capa proteínica o cápside, algunas veces encerrada en una envoltura compuesta de lípidos, proteínas y carbohidratos.
- Un prion es una proteína infecciosa que puede causar enfermedades neurológicas crónicas.
- Las procariotas consisten en bacterias y arqueobacterias.
- Las procariotas son organismos haploides.
- Las eucariotas microbianas, o protistas, pertenecen a cuatro grupos principales: algas, protozoarios, hongos y mohos.
- Las eucariotas tienen núcleos verdaderos y son diploides.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de los siguientes términos caracteriza la interacción entre el virus del herpes simple y un virus de origen humano?
   (A) Parasitismo
   (B) Simbiosis
   (C) Endosimbiosis
   (D) Endoparasitismo
   (E) Consorcio
2. ¿Cuál de los siguientes carece de ácido nucleico?
   (A) Bacterias
   (B) Virus
   (C) Viroides
   (D) Priones
   (E) Protozoarios
3. ¿Cuál de los siguientes es un procariota?
   (A) Bacterias
   (B) Algas
   (C) Protozoarios
   (D) Hongos
   (E) Mohos de fango
4. ¿Cuál de los siguientes agentes contiene simultáneamente DNA y RNA?
   (A) Bacterias
   (B) Virus
   (C) Viroides
   (D) Priones
   (E) Sincicio
5. ¿Cuál de los siguientes no se puede infectar por virus?
   (A) Bacterias
   (B) Protozoarios
   (C) Células humanas
   (D) Virus
   (E) Ninguno de los anteriores
6. Los virus, las bacterias y los protistas se caracterizan de manera exclusiva por sus respectivos tamaños. ¿Verdadero o falso?
   (A) Verdadero
   (B) Falso
7. La percepción del quórum en las procariotas comprende:
   (A) Comunicación entre células
   (B) Producción de moléculas como lactona acetilada de hemosiderina (AHL)
   (C) Un ejemplo de conducta multicelular
   (D) La regulación de los genes que participan en diversos procesos fisiológicos
   (E) Todas las anteriores
8. Una mujer de 16 años de edad acudió con su médico familiar y refirió secreción vaginal anormal y prurito. La paciente negó haber tenido actividad sexual y en fecha reciente concluyó un tratamiento para acné con doxiciclina. El examen de un frotis de secreción vaginal con tinción de Gram reveló la presencia de células grampositivas ovales con un diámetro de 4 a 8 μm. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa de su vaginitis?
   (A) Bacterias
   (B) Virus
   (C) Protozoarios
   (D) Hongos
   (E) Priones
9. Un hombre de 65 años de edad manifiesta demencia progresiva en el transcurso de varios meses acompañada de ataxia y somnolencia. El patrón del electroencefalograma muestra paroxismos con voltajes altos y ondas lentas que sugieren enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa de esta enfermedad?:
   (A) Bacteria
   (B) Virus
   (C) Viroide
   (D) Prion
   (E) Sincicio

10. Unos 20 min después de consumir una almeja cruda, un varón de 35 años de edad manifiesta parestesias en boca y extremidades, cefalea y ataxia. Estos síntomas son resultado de una neurotoxina producida por un alga llamada:
    (A) Ameba
    (B) Algas verde-azules
    (C) Dinoflagelados
    (D) Algas marinas
    (E) Ninguno de las anteriores

Respuestas

1.	A	5.	E	9.	D
2.	D	6.	B	10.	C
3.	A	7.	E		
4.	A	8.	D		

BIBLIOGRAFÍA

Abrescia NGA, Bamford DH, Grimes JM, Stuart DL: Structure unifies the viral universe. *Annu Rev Biochem* 2012;81:795.

Arslan D, Legendre M, Seltzer V, *et al.,* Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:17486.

Belay ED: Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Annu Rev Microbiol* 1999;53:283.

Colby DW, Prusiner SB: De novo generation of prion strains. *Nature Rev Microbiol* 2011;9:771.

Diener TO: Viroids and the nature of viroid diseases. *Arch Virol* 1999;15(Suppl):203.

Fournier PE, Raoult D: Prospects for the future using genomics and proteomics in clinical microbiology. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:169.

Katz LA: Origin and diversification of eukaryotes. *Annu Rev Microbiol* 2012;63:411.

Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*, 4 vols. Academic Press, 1992.

Olsen GJ, Woese CR: The winds of (evolutionary) change: Breathing new life into microbiology. *J Bacteriol* 1994;176:1.

Priola SA: How animal prions cause disease in humans. *Microbe* 2008;3:568.

Prusiner SB: Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol* 1994;48:655.

Schloss PD, Handlesman J: Status of the microbial census. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:686.

Sleigh MA: *Protozoa and Other Protists*. Chapman & Hall, 1990.

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6578.

apter 01_Carroll_4R.indd 10 14/04/16

CAPÍTULO

2

Estructura celular

Este capítulo revisa la estructura y función básica de los componentes que constituyen a las células eucariotas y procariotas. El capítulo inicia con el análisis del microscopio. Desde el punto de vista histórico, el microscopio reveló por primera vez la presencia de bacterias y más tarde, los secretos de la estructura celular. Hoy en día es aún una herramienta poderosa en el estudio de la biología celular.

MÉTODOS ÓPTICOS

El microscopio de luz

El poder de resolución del microscopio de luz bajo condiciones ideales es de casi la mitad de la longitud de onda de la luz utilizada. (El **poder de resolución** es la distancia que debe separar dos puntos de fuentes de luz para que puedan observarse como dos imágenes distintas.) Con la longitud de onda de la luz amarilla con 0.4 μm, los diámetros separados más pequeños son de casi 0.2 μm (p. ej., casi la tercera parte del ancho de una célula procariota típica). La utilidad del microscopio radica en que la magnificación hace visibles las partículas más pequeñas alcanzables en el poder de resolución. A continuación se revisan varios tipos de microscopios de luz, los cuales se utilizan a menudo en microbiología.

A. Microscopio de campo brillante

El microscopio de campo brillante es el utilizado más a menudo en los cursos de microbiología y consiste en dos series de lentes (**objetivo** y **ocular**) que actúan en conjunto para la resolución de la imagen. Estos microscopios por lo general emplean una lente objetivo con 100 aumentos y una lente ocular con 10 aumentos, con lo que la magnificación de la muestra es de hasta 1 000 veces. Las partículas con diámetros de 0.2 μm se incrementan de tamaño a casi 0.2 mm, por lo que se hacen claramente visibles. La magnificación adicional no brinda mayor resolución de detalle y puede reducir el área de visibilidad (**campo**).

Con el microscopio, las muestras se tornan visibles por las diferencias en el **contraste** entre ellas y el entorno. Muchas bacterias son difíciles de observar bien por la falta de contraste con el medio circundante. Pueden utilizarse colorantes para teñir las células o sus organelos e incrementar el contraste, de forma que sean visibles con mayor facilidad en la microscopia de campo brillante.

B. Microscopio de contraste de fases

El microscopio de contraste de fases se desarrolló para mejorar las diferencias de contraste entre las células y el medio circundante, con lo que se hace posible observar células vivas sin tinción; con los microscopios de campo brillante deben utilizarse preparaciones de microorganismos muertos y teñidos. La microscopia de contraste de fases toma ventaja del hecho de que la luz pasa a través de objetos transparentes, como las células, y se fusiona en diferentes fases dependiendo de las propiedades de los materiales a través de los cuales pasa. Este efecto se amplifica por medio de un anillo especial en la lente objetivo del microscopio de contraste de fases, lo que da origen a la formación de una imagen oscura en un entorno luminoso.

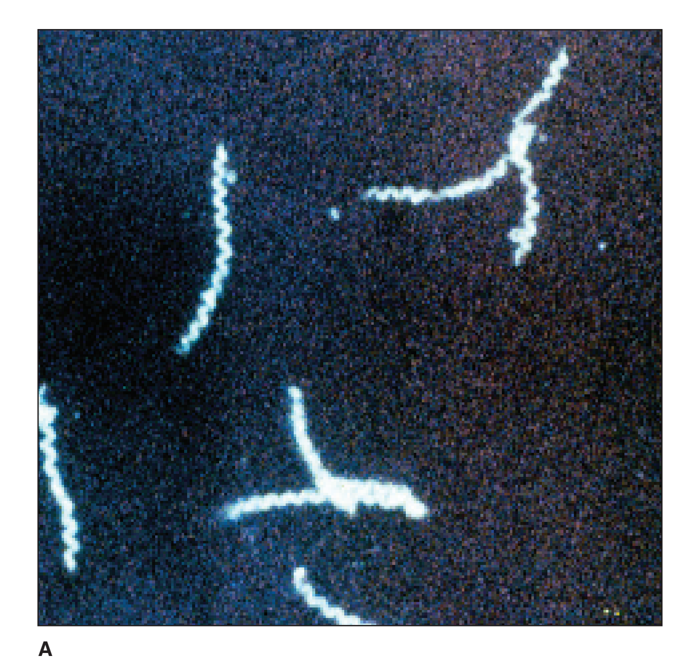
C. Microscopio de campo oscuro

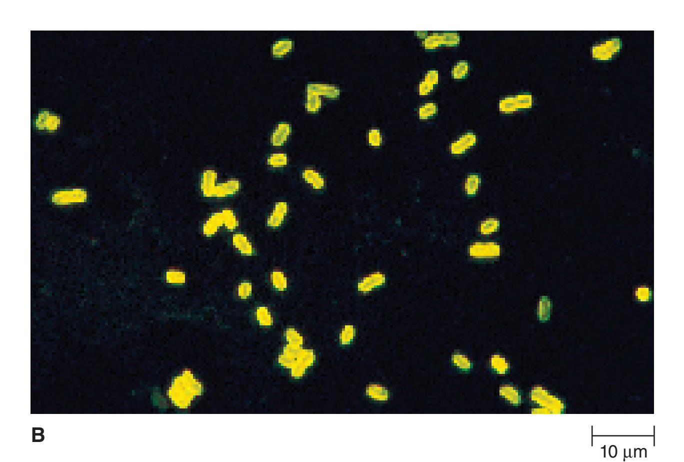
El microscopio de campo oscuro es el microscopio de luz en el cual el sistema de iluminación se ha modificado para alcanzar la muestra desde un solo lado. Esto se logra a través del uso de un condensador especial que bloquea la luz directa y la refleja a través de un espejo ubicado a un costado del condensador en un ángulo oblicuo. Esto crea un "campo oscuro" que contrasta contra el borde luminoso de la muestra y da origen a que los rayos oblicuos se reflejen desde el borde de la muestra hacia el objetivo del microscopio. La resolución de la microscopia de campo oscuro es bastante alta. Así, esta técnica ha sido de particular utilidad para la observación de microorganismos como *Treponema pallidum,* una espiroqueta con un diámetro inferior a 0.2 μm y que por lo tanto no puede observarse con microscopia de contraste de fases o de campo brillante (figura 2-1A).

D. Microscopio de fluorescencia

El microscopio de fluorescencia se utiliza para visualizar muestras con efecto de **fluorescencia**, que tiene la capacidad de absorber luz de longitud de onda corta (ultravioleta) y emitir luz con mayor longitud de onda (luz visible). Algunos microorganismos presentan fluorescencia natural por la presencia de sustancias fluorescentes, como la clorofila. Aquellos que no presentan fluorescencia natural pueden teñirse con un grupo de colorantes fluorescentes denominados **fluorocromos**. La microscopia de fluorescencia se utiliza ampliamente para el diagnóstico microbiológico. Por ejemplo, el fluorocromo auramina O adquiere un color amarillo brillante cuando se expone a la luz ultravioleta y es captado en gran medida por *Mycobacterium tuberculosis,* la bacteria que causa la tuberculosis. Cuando el colorante se aplica a una muestra que se sospecha

apter 02_Carroll_4R.indd 11 14/04/16





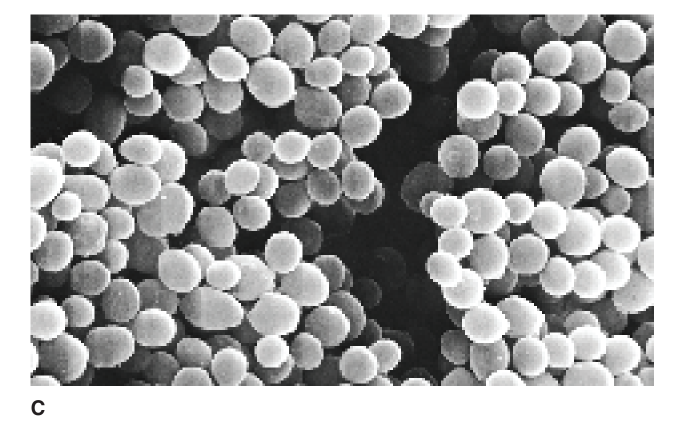


FIGURA 2-1 **A:** Examen positivo en campo oscuro. Los treponemas se identifican por su forma característica en sacacorchos y por los movimientos hacia adelante y hacia atrás con rotación sobre su eje longitudinal. (Reproducida con autorización de Charles Stratton/Visuals Unlimited). **B**: Microfotografía con fluorescencia. Bacteria con forma de bastón realzada con un marcador fluorescente. (© Evans Roberts.) **C:** Microscopia de barrido electrónico de bacterias de *Staphylococcus aureus* (32 000×). (Reproducida con autorización de David M. Phillips/Photo Researchers, Inc.)

contiene *M. tuberculosis* y se expone a la luz ultravioleta, la bacteria puede detectarse por la aparición de microorganismos de color amarillo brillante contra un campo oscuro.

El uso principal de la microscopia de fluorescencia es la técnica diagnóstica denominada **técnica de anticuerpos fluorescentes** (FA, *fluorescent-antibody*) o **inmunofluorescencia**. En esta técnica, anticuerpos específicos (p. ej., anticuerpos contra *Legionella pneumophila*) se marcan por medios químicos con fluorocromos como el **isotiocianato de fluoresceína** (FITC, *fluorescein isothiocyanate*). Tales anticuerpos fluorescentes se añaden a la preparación que contiene la muestra. Si la muestra contiene *L. pneumophila,* los anticuerpos fluorescentes se unen a los antígenos en la superficie de la bacteria, dando origen a fluorescencia cuando haya exposición a luz ultravioleta (figura 2-1B).

E. Microscopio diferencial de contraste de interferencia

Los microscopios **diferenciales de contraste de interferencia** (DIC, *differential interference contrast microscope*) usan un polarizador para producir luz polarizada, la cual se hace pasar a través de un prisma que genera dos haces distintos; éstos pasan a través de la muestra y entran al objetivo donde se combinan en un solo haz. Por las ligeras diferencias en el índice de refracción de las sustancias a través de las cuales pasa cada haz, los haces combinados no están por completo alineados, sino que crean un efecto de interferencia, el cual intensifica diferencias útiles en la estructura celular. Estructuras como esporas, vacuolas y gránulos adquieren un aspecto tridimensional. La microscopia DIC es en particular útil para observar células no teñidas, por su capacidad para producir imágenes que revelan estructuras celulares internas que son menos aparentes con las técnicas de campo brillante.

Microscopio electrónico

El gran poder de resolución de la microscopia electrónica permite a los científicos observar estructuras detalladas de células procariotas y eucariotas. La resolución superior de la microscopia electrónica se debe al hecho de que los electrones tienen una longitud de onda mucho más corta que los fotones de la luz blanca.

Hay dos tipos de microscopios electrónicos para uso general: el **microscopio electrónico de transmisión** (TEM, *transmission electron microscope*), que tiene muchas características en común con el microscopio de luz y el **microscopio electrónico de barrido** (SEM, *scanning electron microscope*). El TEM fue el primero en ser desarrollado y utiliza un haz de electrones proyectados desde una fuente de electrones y se dirige a partir de un condensador electromagnético hacia una muestra delgada. Conforme los electrones golpean la muestra, son dispersados en forma diferencial por los distintos números atómicos y masa atómica en la muestra; algunos electrones pasan a través de la muestra y son recopilados y dirigidos por una lente objetivo electromagnética, que presenta una imagen de la muestra a un sistema de proyección de lentes para su ampliación adicional. Se visualiza la imagen al permitir que se afecte la pantalla, la cual presenta fluorescencia cuando chocan los electrones. La imagen puede registrarse en película fotográfica. El TEM permite observar partículas con separación de 0.001 μm. Los virus con diámetros de 0.01 a 0.2 μm pueden observarse con facilidad.

El SEM por lo común tiene menor poder de resolución que el TEM; sin embargo, es de particular utilidad para proporcionar imágenes tridimensionales de la superficie de objetos microscópicos. Los electrones se dirigen por medio de lentes a un punto muy fino. La interacción de los electrones con la muestra da origen a la liberación de diferentes formas de radiación (p. ej., electrones secundarios) de la superficie del material, la cual se capta por medio de un detector apropiado, se amplifica y más tarde se presenta como imágenes en una pantalla de televisión (figura 2-1C).

Una técnica importante en la microscopia electrónica es el uso de "sombreado". Esto consiste en el depósito de una capa delgada de metal pesado (como platino) sobre la muestra al colocarlo en el trayecto del haz de iones metálicos en el vacío. El haz se dirige en un ángulo agudo respecto a la muestra, de forma que adquiere una "sombra" en la forma de un área no cubierta en el otro lado. Cuando un haz de electrones pasa a través de la preparación cubierta en el microscopio electrónico y se crea una imagen positiva a partir de una imagen "negativa" se logra un efecto tridimensional (figura 2-21).

Otra técnica importante en la microscopia electrónica incluye el uso de cortes ultradelgados de material incrustado, un método de congelamiento-secado de muestras que evita la distorsión causada por los procedimientos convencionales desecados, y con el uso de tinciones negativas con un material denso para los electrones, como el ácido fosfotungsténico o sales de uranilo (figura 42-1). Sin estas sales de metales pesados, no se lograría suficiente contraste para detectar los detalles de una muestra.

Microscopio láser confocal

El **microscopio láser confocal** (CSLM, *confocal scanning laser microscope*) asocia una fuente luminosa láser con un microscopio de luz. En la microscopia láser confocal un haz láser se dirige a un espejo que a su vez dirige el haz a través del dispositivo de imagen. A continuación el haz láser se dirige a través de un orificio que se ajusta con precisión al plano del foco del haz para dar una capa vertical en la muestra. Al iluminar con precisión sólo un plano de la muestra, la intensidad de la iluminación disminuye con rapidez por arriba y por abajo del plano del foco y aleja la luz de otros planos diferentes al focal. Así, con muestras relativamente gruesas, pueden observarse varias capas al ajustar el plano del foco del haz láser.

Las células a menudo se tiñen con colorantes fluorescentes para hacerlas más visibles. Otro método consiste en generar imágenes con color falso al ajustar el microscopio en forma tal que se obtengan diferentes capas con diferentes colores. Los microscopios láser confocales están equipados con programas informáticos para crear imágenes digitales para su procesamiento subsiguiente. Así, las imágenes obtenidas de las diferentes capas pueden almacenarse y superponerse por medios digitales para reconstruir una imagen tridimensional de la totalidad de la muestra.

Microscopio de sonda de barrido

Los **microscopios de sonda de barrido** son una nueva clase de microscopios que miden características de la superficie al desplazar una sonda sobre la superficie del objeto. La **microscopia de efecto túnel** y la **microscopia de fuerza atómica** son ejemplos de esta nueva clase de microscopios, que permiten a los científicos observar átomos o moléculas en la superficie de la muestra estudiada. Por ejemplo, pueden estudiarse las interacciones entre las proteínas de la bacteria *Escherichia coli* con el empleo de un microscopio de fuerza atómica.

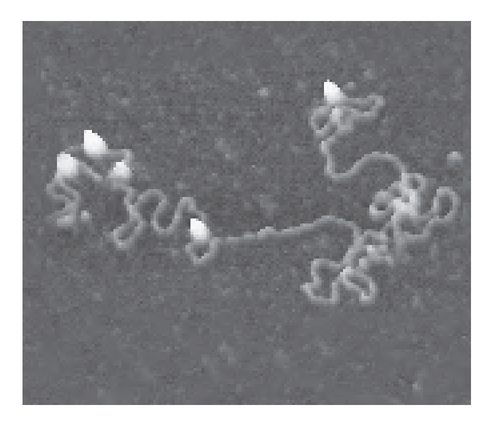


FIGURA 2-2 Microscopio de fuerza atómica. Micrografía de un fragmento de DNA. Las zonas brillantes en forma de pico corresponden a enzimas unidas al DNA (Torunn Berg, Photo Researchers, Inc).

ESTRUCTURA DE CÉLULAS EUCARIOTAS

Núcleo

El **núcleo** contiene el genoma de la célula. Está limitado por una membrana formada por un par de unidades de membrana separadas por un espacio de grosor variable. La membrana interna por lo común es un saco simple, pero la membrana más externa se presenta en varios sitios como una continuación del retículo endoplásmico (ER, *endoplasmic reticulum*). La **membrana nuclear** muestra permeabilidad selectiva por la presencia de poros, que consisten en varias proteínas complejas cuya función es importar sustancias y extraer sustancias del núcleo. Los cromosomas de las células eucariotas contienen macromoléculas de DNA lineal expuestas en una doble hélice. Sólo son visibles con la microscopia de luz cuando la célula se encuentra en división y el DNA se encuentra en una forma muy condensada; en otros momentos los cromosomas no se encuentran condensados y tienen el aspecto que se muestra en la figura 2-3. Las macromoléculas de DNA de las células eucariotas se asocian con proteínas básicas denominadas **histonas** que se unen al DNA por medio de interacciones iónicas.

Una estructura a menudo visible en el núcleo es el **nucléolo**, un área rica en RNA que es el sitio de síntesis del RNA ribosómico (figura 2-3). Las proteínas ribosómicas sintetizadas en el citoplasma se transportan hacia el nucléolo y se combinan con RNA ribosómico para formar subunidades grandes y pequeñas de ribosoma eucariota. Más tarde éstas son llevadas al citoplasma donde se asocian para formar ribosomas intactos que participan en la síntesis de proteínas.

Estructuras citoplásmicas

El citoplasma de las células eucariotas se caracteriza por la presencia de un ER, vacuolas, plástidos que se reproducen por sí

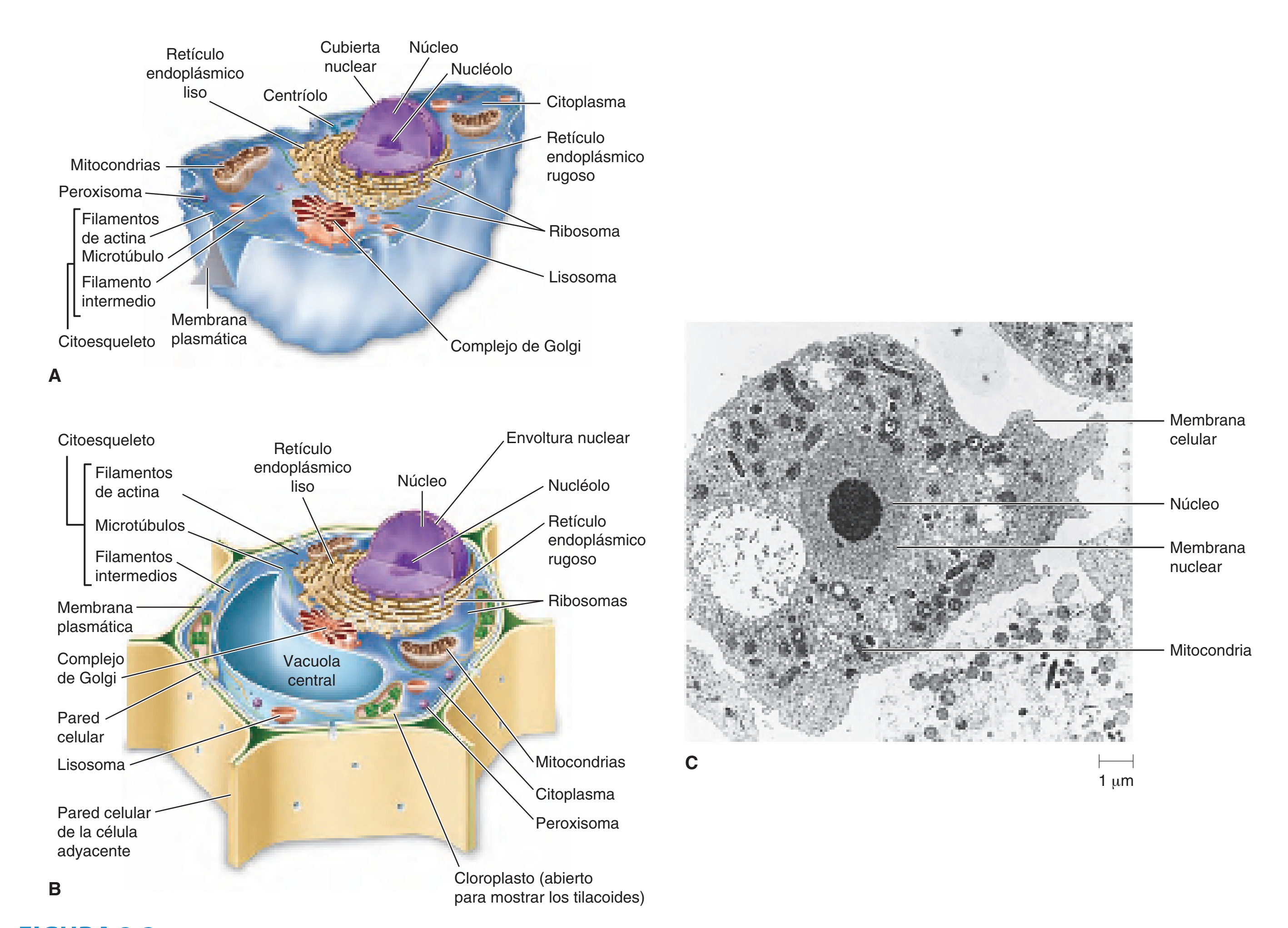


FIGURA 2-3 Células eucariotas. **A:** Representación esquemática de una célula animal. **B:** Representación esquemática de una célula vegetal. **C:** micrografía de una célula animal que muestra varias estructuras unidas a la membrana, incluidas mitocondrias y núcleo [figura 2-3 **(A)** y **(B)**]. Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT: *Microbiology: a Human Perspective*, 6a. ed. McGraw-Hill, 2009. Figura 2-3 **(C)** reproducida con autorización de Thomas Fritsche, MD, PhD).

mismos y un citoesqueleto complejo, compuesto por microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios.

El **retículo endoplásmico** es una red de conductos limitados por membranas que tienen continuidad con la membrana del núcleo. Se identifican dos tipos de ER: **rugoso**, al cual se unen ribosomas 80S y **liso**, sin dichos ribosomas (figura 2-3). El ER rugoso es el principal productor de glucoproteínas y también produce nuevo material de membrana que se transporta a través de la célula; el ER liso participa en la síntesis de lípidos y en algunos aspectos del metabolismo de los carbohidratos. El **aparato de Golgi** consiste en un conjunto de membranas que funcionan en combinación con el ER para modificar y organizar productos químicos del retículo endoplásmico que más tarde serán secretados y aquellos que participan en la producción de otras estructuras de la membrana celular.

Los plástidos incluyen **mitocondrias** y **cloroplastos**. Varias pruebas sugieren que las mitocondrias y cloroplastos son descendientes de microorganismos procariotas antiguos y que se originaron del englobamiento de células procariotas por células de mayor tamaño (**endosimbiosis**). Las mitocondrias tienen el tamaño de una célula procariota y su membrana, que carece de esteroles, es mucho menos rígida que la membrana citoplásmica de las células eucariotas, las cuales contienen esteroles. Las mitocondrias contienen dos grupos de membranas. La membrana más externa es permeable y cuenta con numerosos conductos diminutos que permiten el paso de iones y moléculas pequeñas (p. ej., trifosfato de adenosina [ATP, *adenosine triphosphate*]). La invaginación de la membrana externa forma un sistema de membranas plegadas internas denominadas **crestas**. Las crestas son los sitios donde se encuentran las enzimas que participan en la respiración y producción de ATP. También contienen proteínas de transporte específico que regulan el paso de metabolitos hacia el interior y el exterior de la **matriz** mitocondrial. Dicha matriz contiene varias enzimas, en particular aquellas que participan en el ciclo del ácido cítrico. Los cloroplastos son organelos celulares fotosintéticos capaces de convertir la energía de la luz solar a energía química por medio de la fotosíntesis. La clorofila y todos los demás componentes necesarios para la fotosíntesis se ubican en una serie de discos aplanados de la membrana denominados **tilacoides**. El tamaño, forma y número de cloroplastos por célula varía notablemente; a diferencia de las mitocondrias, los cloroplastos por lo general son mucho más grandes que las células procariotas. Las mitocondrias y cloroplastos contienen su propio DNA, el cual se encuentra en forma circular cerrada por medio de enlaces covalentes y codifica algunas proteínas

(no todas) y participa en la transferencia de RNA. Las mitocondrias y cloroplastos también contienen ribosomas 70S, al igual que las procariotas.

Algunos microorganismos eucariotas (p. ej., *Trichomonas vaginalis)* carecen de mitocondrias y en su lugar contienen organelos respiratorios rodeados por una membrana, denominados **hidrogenosomas**. Estos últimos también parecen haberse originado por endosimbiosis y en algunos se ha identificado que contienen DNA y ribosomas. Los hidrogenosomas, pese a que son similares en tamaño con las mitocondrias, carecen de crestas y de las enzimas del ciclo del ácido tricarboxílico. El hidrogenosoma capta al piruvato, H_2, CO_2 y acetato y produce ATP.

Los **lisosomas** son sacos rodeados por membrana que contienen varias enzimas digestivas que las células utilizan para desdoblar macromoléculas como proteínas, grasas y polisacáridos. Los lisosomas permiten que estas enzimas no se encuentren en contacto con el citoplasma, donde pueden destruir macromoléculas celulares de importancia si no son contenidas en forma apropiada. Después de la hidrólisis de macromoléculas en los lisosomas, los monómeros resultantes pasan del lisosoma hacia el citoplasma donde actúan como nutrientes.

El **peroxisoma** es una estructura rodeada por membrana cuya función consiste en producir H_2O_2 por la reducción de O_2 a partir de varios hidrógenos donadores. El H_2O_2 producido en el peroxisoma más tarde se degrada a H_2O y O_2 por acción de la enzima **catalasa**.

El **citoesqueleto** es una estructura tridimensional que ocupa el citoplasma. Los tres tipos principales de fibras que comprenden el citoesqueleto son **microfilamentos**, **filamentos intermedios** y **microtúbulos**. Los microfilamentos tienen casi 3 a 6 nm de diámetro y son los polímeros compuestos por subunidades de la proteína **actina**. Estas fibras forman andamios a través de los cuales se define y mantiene la forma de la célula. Los microfilamentos pueden desplazarse por los movimientos celulares, lo que incluye deslizamiento, contracción y citocinesis.

Los microtúbulos son tubos cilíndricos, de 20 a 25 nm de diámetro y están compuestos por subunidades de la proteína **tubulina**. Los microtúbulos colaboran con los microfilamentos para mantener la estructura celular, formar las fibras fusiformes que separan los cromosomas durante la mitosis y también participar de manera importante en la motilidad celular. Los filamentos intermedios tienen casi 10 nm de diámetro y proporcionan fuerza tensil a la célula.

Capas superficiales

El citoplasma está rodeado por una membrana plasmática compuesta por proteínas y fosfolípidos, similar a la membrana de las células procariotas, ilustrada más adelante (figura 2-11). La mayor parte de las células animales no tienen otras capas superficiales; no obstante, las células vegetales tienen una pared celular externa compuesta por celulosa (figura 2-3b). Muchos microorganismos eucariotas también tienen una **pared celular** externa, que puede ser compuesta por polisacáridos como celulosa o quitina o pueden ser inorgánicos, por ejemplo, la pared de sílice de las diatomeas.



FIGURA 2-4 Paramecio que se desplaza con la ayuda de cilios en la superficie celular. (© Manfred Kage).

Organelos que participan en la motilidad

Muchos microorganismos eucariotas tienen organelos denominados **flagelos** (p. ej., *T. vaginalis*) o **cilios** (p. ej., *Paramecium*) que permiten el movimiento similar a una onda que desplaza las células sobre el agua. Los flagelos eucariotas surgen de las regiones polares de la célula y los cilios, que son más cortos que los flagelos, rodean a las células (figura 2-4). Los flagelos y los cilios de las células eucariotas tienen la misma estructura básica y composición bioquímica. Ambos consisten en grupos de microtúbulos, cilindros proteínicos huecos compuestos por una proteína llamada **tubulina** y que está rodeada por una membrana. La disposición de los microtúbulos se conoce como "sistema 9 + 2" porque está formado de nueve pares periféricos de microtúbulos rodeados por dos microtúbulos centrales (figura 2-5).

ESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS PROCARIOTAS

La célula procariota es más simple que la eucariota en todos los aspectos, con una excepción: la envoltura celular es más compleja.

Nucleoide

Las células procariotas no tienen un núcleo verdadero; almacenan su DNA en una estructura conocida como **nucleoide**. El DNA de carga negativa es neutralizado, al menos en parte, por poliaminas pequeñas y por iones de magnesio, pero las proteínas similares a histonas existen en bacterias y tal vez desempeñan una función similar a la de las histonas en la cromatina de las células eucariotas.

Las micrografías electrónicas de células procariotas típicas revelan la presencia de membrana nuclear y de un aparato mitótico. La excepción a esta regla son los plantomicetos, un grupo de bacterias acuáticas que tienen un nucleoide rodeado por una cubierta nuclear formada por dos membranas. La diferenciación entre las células procariotas y eucariotas es que las

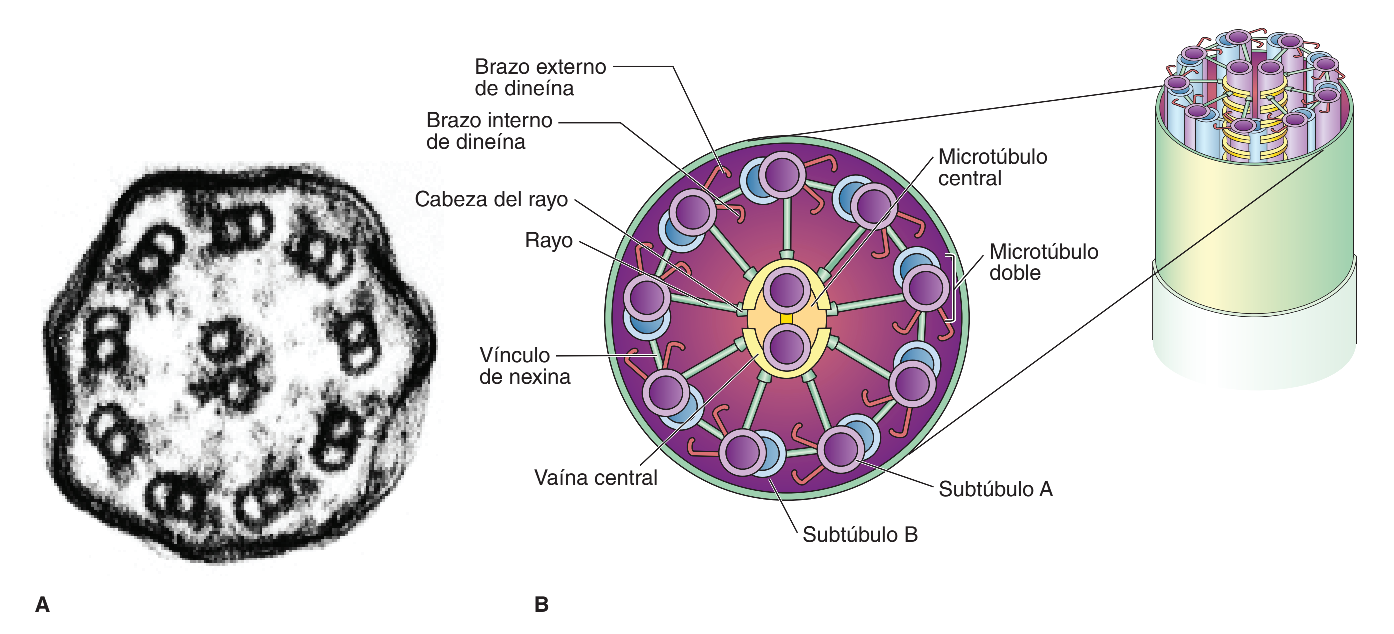


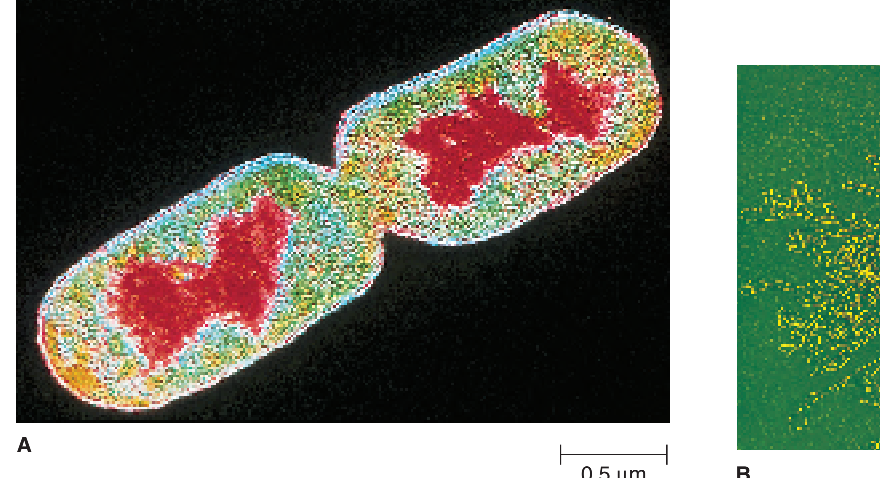
FIGURA 2-5 Estructura de cilios y flagelos. **A:** Micrografía electrónica de un corte transversal de un cilio. Obsérvense los dos microtúbulos centrales rodeados por nueve dobletes de microtúbulos (160 000×). (Reproducida de KG Murti/Visuals Unlimited) **B:** Diagrama de la estructura de cilios y flagelos. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology,* 7a. ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Will Companies, Inc.)

primeras no cuentan con un aparato similar al huso mitótico. La región nuclear (figura 2-6) está llena de fibrillas de DNA. El nucleoide de la mayor parte de las células bacterianas consiste en una molécula circular única y continua, que varía en tamaño de 0.58 a casi 10 millones de pares de bases. Sin embargo, unas cuantas bacterias han demostrado poseer dos, tres o incluso cuatro cromosomas diferentes. Por ejemplo, *Vibrio cholerae* y *Brucella melitensis* tienen dos cromosomas distintos. Hay dos excepciones a esta regla de material genético circular porque algunas células procariotas (*Borrelia burgdorferi* y *Streptomyces coelicolor*) han mostrado poseer cromosomas lineales.

En las bacterias, el número de nucleoides y por lo tanto el número de cromosomas, depende de las condiciones de proliferación. Las bacterias con rápido crecimiento tienen nucleoides más grandes por célula que las de crecimiento lento; sin embargo, cuando se presentan múltiples copias, todas son similares (es decir, las células procariotas son **haploides**).

Estructuras citoplásmicas

Las células procariotas carecen de plástidos autónomos, como las mitocondrias y cloroplastos; las enzimas de transporte de electrones se localizan en la membrana citoplásmica. Los pigmentos fotosintéticos (carotenoides, bacterioclorofila) de bacterias fotosintéticas se encuentran contenidos en sistemas de membranas intracitoplásmicas de varias morfologías. Las ve-



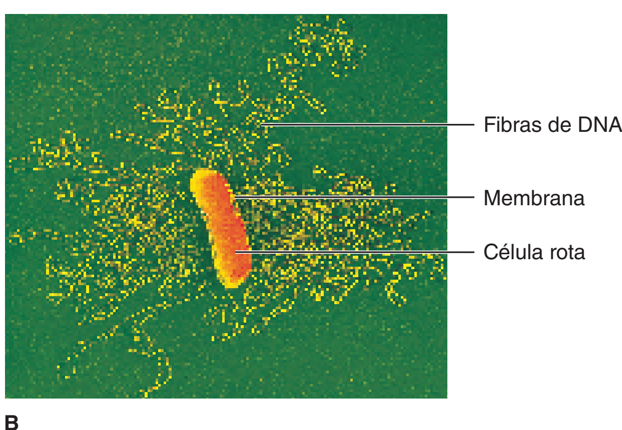


FIGURA 2-6 Nucleoide. **A**: Microfotografía electrónica de transmisión resaltada con color de una *Escherichia coli* con su DNA en rojo. (© CNRI/SPL/Photo Researchers, Inc.) **B**: Cromosoma liberado de una célula de *E. coli* que fue lisada con delicadeza. Obsérvese qué tan comprimido debe encontrarse el DNA dentro de la bacteria. (© Dr. Gopal Murti/SPL/Photo Researchers).

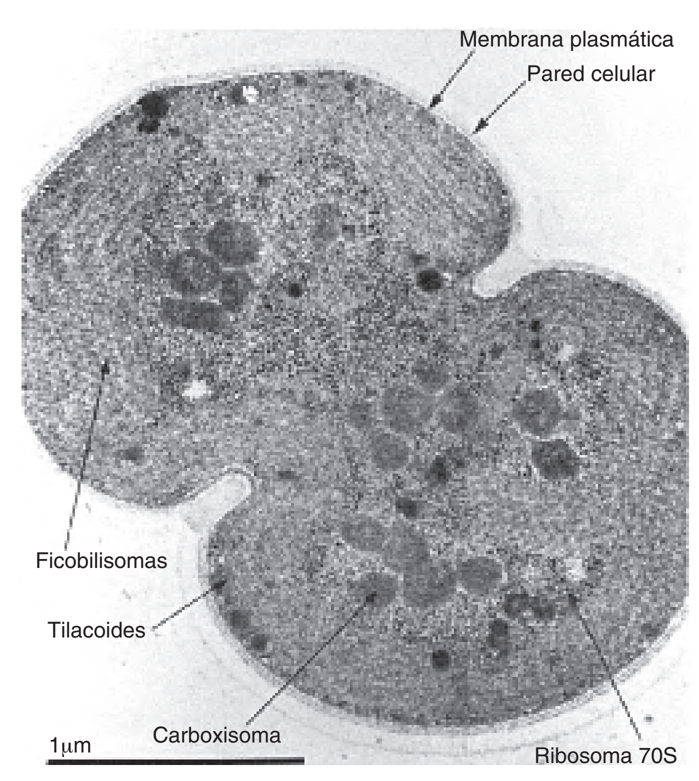


FIGURA 2-7 Corte delgado de *Synechocystis* durante la división celular. Se observan varias estructuras (reproducida de Stanier RY: The position of cyanobacteria in the world of phototrophs. Carlsberg Res Commun 42:7798, 1977. Con autorización de Springer + Business Media).

sículas de membrana (cromatóforos) son tipos de membrana observadas a menudo. Algunas bacterias fotosintéticas tienen estructuras especializadas rodeadas por membrana denominadas **clorosomas**. En algunas cianobacterias (antes conocidas como algas azul-verdosas) las membranas fotosintéticas a menudo forman estructuras de múltiples capas conocidas como tilacoides (figura 2-7). Los principales pigmentos accesorios utilizados para recolectar luz son las ficobilinas que se encuentran en la superficie externa de las membranas de los tilacoides.

Las bacterias a menudo almacenan materiales de reserva en forma de gránulos insolubles, que tienen el aspecto de cuerpos refringentes en el citoplasma cuando se observan en un microscopio de contraste de fases. También se denominan cuerpos de inclusión y casi siempre participan en el almacenamiento de energía o como reservorio de bloques estructurales. La mayor parte de las inclusiones celulares están limitadas por una membrana delgada formada por lípidos, que sirve para separar los cuerpos de inclusión del citoplasma mismo. Uno de los cuerpos de inclusión más comunes consiste en **ácido poli-β hidroxibutírico** (PHB, *poly-β-hydroxybutyric acid*), un compuesto similar a un lípido que tiene cadenas de ácido β-hidroxibutírico conectadas a través de enlaces éster. El PBH se produce cuando la fuente de nitrógeno, sulfuro y fósforo se encuentra limitada y hay exceso de carbón en el medio (figura 2-8A). Otro producto de almacenamiento formado por las células procariotas cuando hay carbón en cantidades excesivas es el **glucógeno**, un polímero de la glucosa. El glucógeno y PHB se utilizan como fuentes de carbono cuando se reinicia la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Diversos procariotas son capaces de oxidar compuestos de sulfuro reducidos como ácido sulfhídrico y tiosulfato, produciendo gránulos intracelulares de **azufre** elemental (figura 2-8B). Conforme las fuentes de azufre reducido se ven limitadas, se oxidan los gránulos de azufre, por lo común a sulfato y los gránulos desaparecen con lentitud. Muchas bacterias acumulan grandes reservas de fosfato inorgánico en la forma de gránulos de **polifosfato**. Tales gránulos podrán degradarse y utilizarse como fuentes de fosfato para la producción de ácidos nucleicos y síntesis de fosfolípidos para mantener el crecimiento. En ocasiones, éstos se denominan **gránulos de volutina** o **gránulos metacromáticos**, porque se tiñen de rojo con un colorante azul. Estas son características de las corinebacterias (capítulo 13).

Ciertos grupos de bacterias autótrofas que fijan dióxido de carbono producen bloques de construcción bioquímica que contienen cuerpos poliédricos rodeados por una cubierta proteínica (**carboxisomas**) y contienen una enzima fundamental para la fijación de CO_2, la **carboxilasa de ribulosa bifosfato** (figura 2-7). Los **magnetosomas** son partículas cristalinas intracelulares del mineral de hierro magnetita (Fe_3O_4) que permiten que ciertas bacterias acuáticas muestren magnetotaxis (migración u orientación de la célula respecto al campo magnético de la Tierra). Los magnetosomas están rodeados por membranas que contienen fosfolípidos, proteínas y glucoproteínas. Las **vesículas de gas** se observan, casi de manera exclusiva en microorganismos de hábitat acuáticos, donde proporcionan flotabilidad. Las membranas de las vesículas de gas tienen proteínas con un grosor de 2 nm, son impermeables al agua y a los solutos pero permeables a los gases; así, las vesículas de gas existen como estructuras llenas de gas rodeadas por elementos del citoplasma (figura 2-9).

Las bacterias contienen proteínas similares a la actina y proteínas del citoesqueleto diferentes a la actina de las células eucariotas, como proteínas adicionales que participan en la formación del citoesqueleto (figura 2-10). Los homólogos de la actina (p. ej., MreB, Mbl) realizan varias funciones, y colaboran a establecer la forma de la célula, segregar cromosomas y localizar proteínas en la célula. Los homólogos diferentes a la actina (p. ej., FtsZ) y proteínas singulares del citoesqueleto bacteriano (p. ej., SecY, MinD) participan en determinar la forma celular en la regulación de la división celular y segregación de cromosomas.

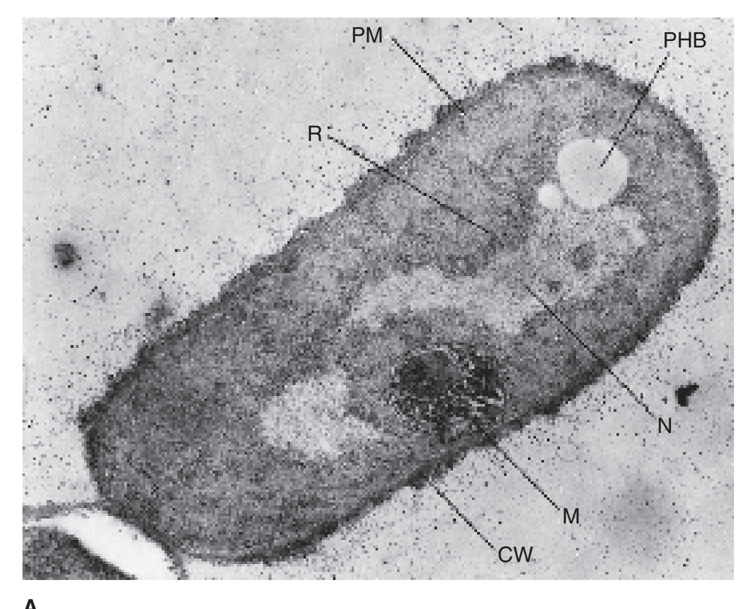
Envoltura celular

Las células procariotas están rodeadas por una envoltura compleja en capas que difiere en composición entre los principales grupos. Tales estructuras protegen al microorganismo de entornos ambientales hostiles, como osmolaridad extrema, químicos nocivos e incluso antibióticos.

Membrana celular

A. Estructura

La membrana celular bacteriana, también denominada membrana citoplásmica, es visible en la micrografía electrónica de cortes delgados (figura 2-15). Es una "unidad de membrana" típica compuesta por fosfolípidos y hasta 200 diferentes tipos de proteínas. Las proteínas constituyen casi 70% de la masa de



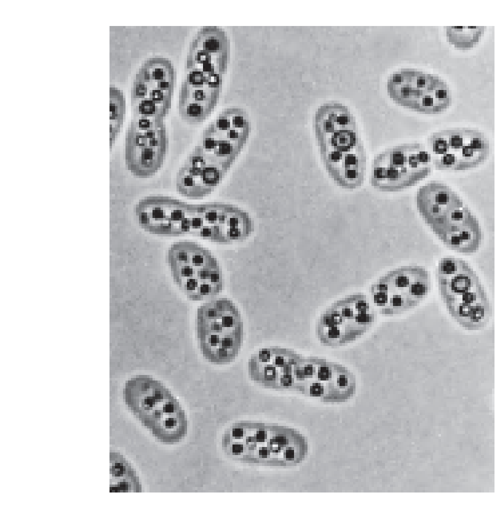


FIGURA 2-8 Cuerpos de inclusión en bacterias. **A:** Micrografía electrónica de *Bacillus megaterium* (30500×) que muestra un cuerpo de inclusión de ácido poli-β-hidroxibutírico, PHB; pared celular, CW; nucleoide, N; membrana plasmática, PM; "mesosoma", M; y ribosomas, R. (Reproducida con autorización de Ralph A. Slepecky/Visuals Unlimited.) **B:** *Cromatium vinosum,* una bacteria reductora de sulfato con gránulos intracelulares de azufre en microscopia de campo brillante (2 000×). (Reproducida con autorización de John Holt (ed.): *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,* 8a. ed, John Holt, editor, 1977. Copyright Bergey's Manual Trust.)

la membrana, una proporción considerablemente más elevada en comparación con las membranas de las células de mamíferos. En la figura 2-11 se ilustra un modelo de organización de la membrana. La membrana de las células procariotas se diferencia de aquella de las células eucariotas por la ausencia de esteroles y la única excepción son los micoplasmas que incorporan esteroles, como el colesterol, en sus membranas cuando se cultiva en medios que contienen esteroles.

Las membranas celulares de las *arqueobacterias* difieren de las *bacterias* (capítulo 1). Las membranas celulares de algunas arqueobacterias contienen un lípido singular, los **isoprenoides** en lugar de ácidos grasos, unidos al glicerol por un enlace éter en lugar de un enlace éster. Algunos de estos lípidos no contienen grupos fosfato y por lo tanto no son fosfolípidos. En otras especies las membranas celulares están constituidas por una monocapa de lípidos formada por lípidos grandes (casi el doble de la longitud de los fosfolípidos) con éteres de glicerol en ambos extremos (tetraéteres de diglicerol). Las moléculas se orientan a sí mismas por la presencia de grupos de glicerol polares en la superficie y cadenas de compuestos hidrocarbonos no polares en su interior. Estos lípidos poco comunes contribuyen a la capacidad de múltiples *arqueobacterias* de proliferar en condiciones ambientales, por ejemplo en presencia de grandes concentraciones de sal, pH bajo o temperaturas muy elevadas.

B. Función

Las principales funciones de la membrana citoplásmica son: 1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos; 2) transporte de electrones y fosforilación oxidativa en especies aerobias; 3) excreción de exoenzimas hidrolíticas; 4) transporte de

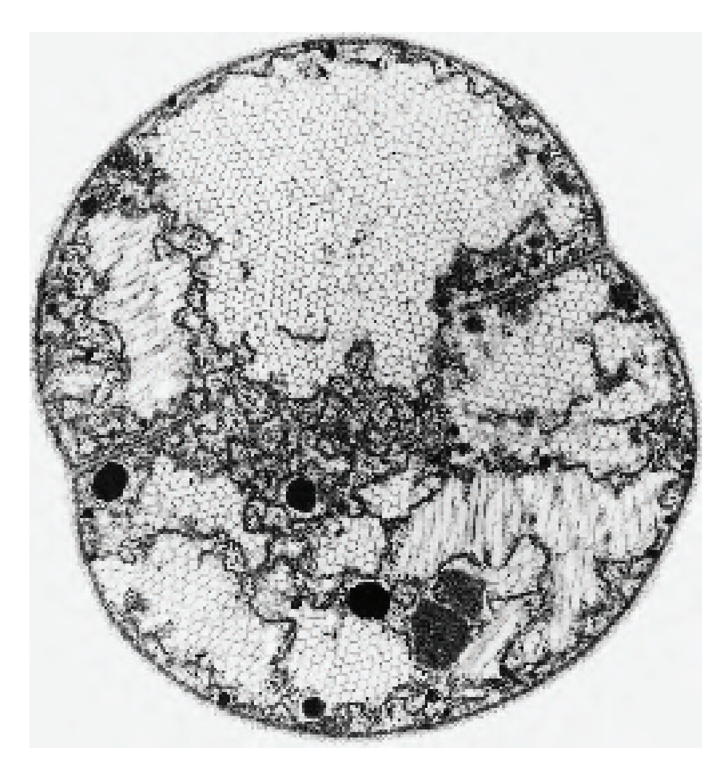


FIGURA 2-9 Corte transversal de una célula en división de una cianobacteria del género *Microcystis* que muestra agrupamiento hexagonal de vesículas cilíndricas de gas (31 500×). (Micrografía de HS Pankratz. Reproducida con autorización de Walsby AE: Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94.)

enzimas y moléculas que participan en la biosíntesis de DNA, polímeros de la pared celular y lípidos de la membrana, y 5) portar receptores y otras proteínas quimiotácticas y otros sistemas sensoriales de transducción.

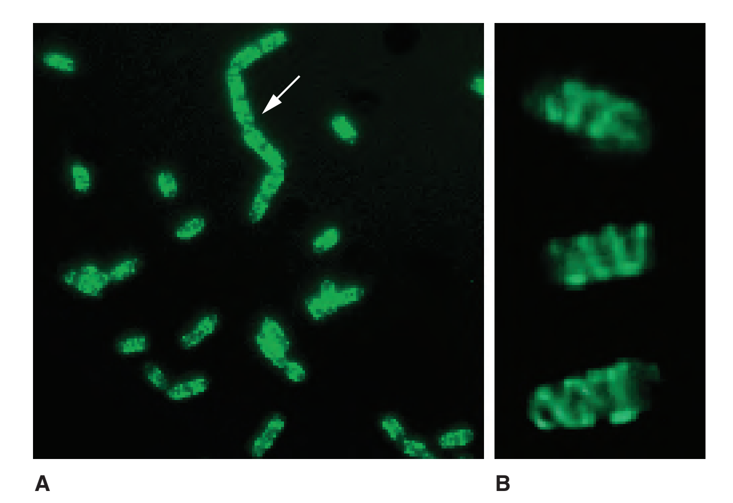


FIGURA 2-10 Citoesqueleto de una célula procariota. Se observa la proteína citoesquelética similar a MreB (Mbl) de *Bacillus subtilis*. La proteína Mbl se fusionó con una proteína fluorescente verde y las células vivas se analizaron en un microscopio de fluorescencia. **A:** *Las flechas* señalan los cables helicoidales del citoesqueleto que se extienden en la longitud de las células. **B:** Se muestran tres células de la ilustración A con mayor aumento. (Cortesía de Rut Carballido-López y Jeff Errington.)

Al menos 50% de la membrana citoplásmica debe encontrarse en estado semilíquido a fin de que ocurra la proliferación celular. Con temperaturas bajas, esto se logra al incrementar en gran medida la síntesis e incorporación de ácidos grasos no saturados en los fosfolípidos de la membrana celular.

1. Permeabilidad de transporte. La membrana citoplásmica forma una barrera hidrófoba impermeable a la mayor parte de las moléculas hidrofílicas. Sin embargo, existen varios mecanismos (**sistemas de transporte**) que permiten que la célula transporte nutrientes hacia el interior de la misma y productos de desecho hacia el exterior. Estos sistemas de transporte trabajan contra gradiente de concentración con el fin de incrementar la concentración de nutrientes en el interior de la célula, una función que requiere alguna forma de energía. Hay tres mecanismos de transporte generales que participan en el transporte de membrana: **transporte pasivo**, **transporte activo** y **translocación de grupo**.

a. Transporte pasivo. Este mecanismo depende de la difusión, no utiliza la energía y funciona sólo cuando el soluto se encuentra en concentraciones más elevadas fuera de la célula. La **difusión simple** explica la entrada de muy pocos nutrientes, lo que incluye el oxígeno disuelto, dióxido de carbono y el agua misma; no proporciona velocidad ni selectividad. La **difusión facilitada** no utiliza energía, de forma que el soluto nunca alcanza una concentración interna mayor que la que existe fuera de la célula. Sin embargo, esta difusión es selectiva. Los **conductos de proteínas** forman conductos selectivos que facilitan el paso de moléculas específicas. La difusión facilitada es común en microorganismos eucariotas (p. ej., levaduras) pero es poco común en células procariotas. El glicerol es uno de los pocos compuestos que penetran en las células procariotas por difusión facilitada.

b. Transporte activo. Muchos nutrientes se concentran más de 1 000 veces como consecuencia del transporte activo. Hay dos tipos de mecanismos de transporte activo, lo que depende de la fuente de energía utilizada: **transporte acoplado con iones** y **transporte con casete unido a ATP (ABC)**.

1) *Transporte acoplado con iones.* Estos sistemas desplazan una molécula a través de la membrana celular siguiendo un gradiente iónico previamente establecido, como una **fuerza de movimiento por sodio** o **de movimiento por protones**. Hay tres tipos básicos: **transporte simple** (*uniport*), **cotransporte unidireccional** (*symport*) y **cotransporte bidireccional** (*antiport*) (figura 2-12). El transporte acoplado con iones es en particular común en microorganismos aerobios, que tienen mayor facilidad para generar una fuerza de desplazamiento de iones que los microorganismos anaerobios. Los transportadores simples catalizan el transporte de un sustrato sin importar el ion acoplado. Los cotransportadores unidireccionales catalizan el transporte simultáneo de dos sustratos en la misma dirección por un solo transportador; por ejemplo, un gradiente de H^+ puede permitir el cotransporte unidireccional de iones de carga opuesta (p. ej., glicina) o de moléculas de carga neutra (p. ej., galactosa). Los cotransportadores bidireccionales catalizan el transporte simultáneo de dos compuestos de carga similar en direcciones opuestas por un transportador común (p. ej., H^+:Na^+). Casi 40% de los sustratos transportados por *E. coli* utilizan este mecanismo.

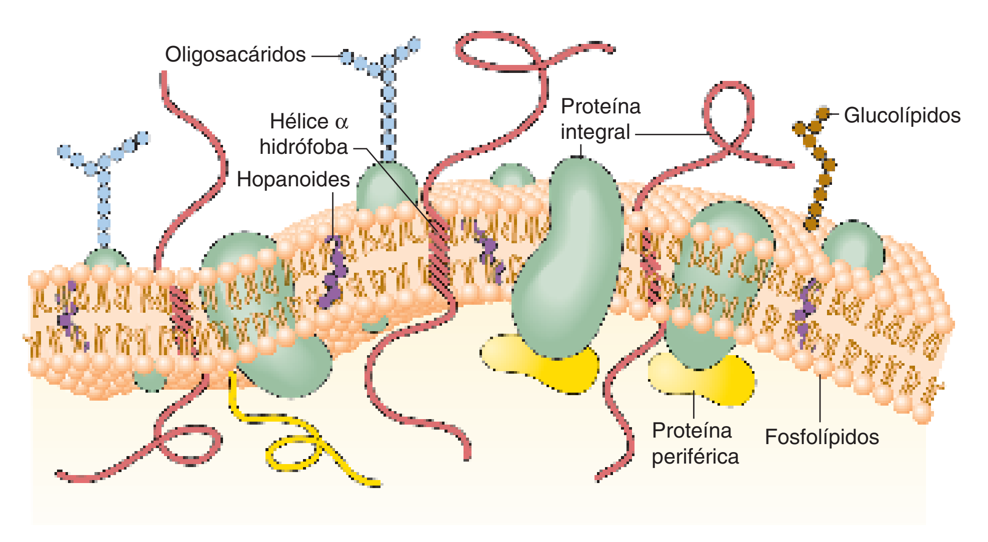


FIGURA 2-11 Estructura de la membrana plasmática bacteriana. Este diagrama del modelo de mosaico líquido de la estructura de la membrana bacteriana muestra proteínas integrales (*verdes* y *rojas*) flotando en una bicapa lipídica. Las proteínas periféricas (en color *amarillo*) tienen una asociación laxa con la superficie de la membrana interna. Las esferas pequeñas representan extremos hidrofílicos de fosfolípidos de la membrana y colas onduladas, que corresponden a las cadenas hidrófobas de ácidos grasos. Pueden encontrarse otros lípidos de membrana como los hopanoides (en color *morado*). Para mayor claridad, los fosfolípidos se muestran en un tamaño proporcionalmente mayor del que se encuentra en la membrana real. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (eds): *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7a. ed. Nueva York, McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Will Companies, Inc.)

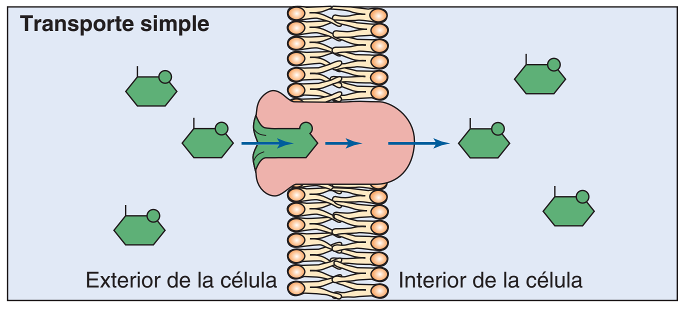
2) *Transporte ABC.* Este mecanismo emplea ATP directamente para el transporte de solutos hacia el interior de la célula. En bacterias gramnegativas el transporte de varios nutrientes se facilita por **proteínas transportadoras (de unión)** específicas que se ubican en el espacio periplasmático; en células grampositivas las proteínas de unión se encuentran fijas a la superficie externa de la membrana celular. Estas proteínas funcionan al transferir el sustrato de unión a un complejo proteínico unido a la membrana. Se desencadena la hidrólisis de ATP y se utiliza la energía para abrir los poros de la membrana y permitir el movimiento unidireccional de los sustratos hacia el interior de la célula. Casi 40% de los sustratos transportados por *E. coli* utilizan este mecanismo.

c. Translocación de grupo. Además del transporte verdadero, en el cual un soluto se desplaza a través de la membrana sin cambio en su estructura, las bacterias utilizan un proceso denominado translocación del grupo (**metabolismo vectorial**) para llevar a cabo la captación neta de ciertos carbohidratos (p. ej., glucosa y manosa) el sustrato sufre fosforilación durante el proceso de transporte. En un sentido estricto, la translocación de grupo no es un transporte activo porque no participa un gradiente de concentración. Dicho proceso permite que las bacterias utilicen sus fuentes energéticas de manera eficiente al acoplar el transporte con el metabolismo. En este proceso, una proteína transportadora de membrana sufre fosforilación en el citoplasma a expensas del fosfoenolpiruvato; la proteína transportadora fosforilada se une al azúcar libre en la cara exterior de la membrana, es transportada hacia el citoplasma y liberada en forma de carbohidrato unido a un fosfato. Tales sistemas de transporte de carbohidratos se denominan sistemas de **fosfotransferasas**. Los sistemas de fosfotransferasas también participan en el movimiento hacia las fuentes de carbono (**quimiotaxia**) y en la regulación de otras vías metabólicas (**represión catabólica**).

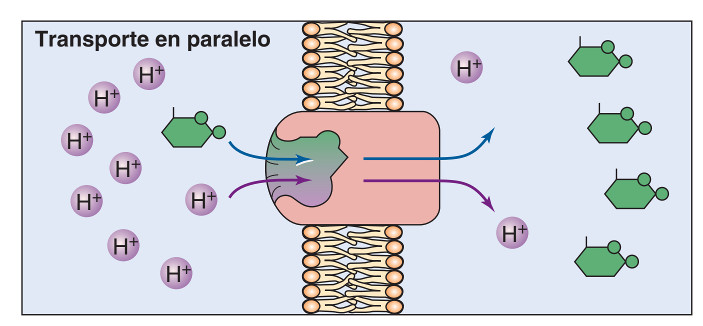
d. Procesos especiales de transporte. El hierro (Fe) es un nutriente esencial para la proliferación de la mayor parte de las bacterias. En condiciones anaerobias este elemento por lo general se encuentra en estado de oxidación +2 y en estado soluble. Sin embargo, en condiciones anaerobias dicho metal por lo común se encuentra en estado de oxidación +3 y es insoluble. Los compartimentos internos de los animales prácticamente no contienen hierro libre, pues se encuentra secuestrado en complejos como las proteínas **transferrina** y **lactoferrina**. Algunas bacterias resuelven este problema al secretar **sideróforos**, compuestos que causan la quelación de hierro y favorecen su transporte a complejos solubles. Uno de los principales grupos de sideróforos consiste en derivados del ácido hidroxámico ($-CONH_2OH$), los cuales producen la quelación intensa de Fe^{3+}. El complejo hierro-hidroxamato es transportado activamente hacia el interior de la célula por la acción cooperativa de un grupo de proteínas que abarcan la membrana externa, el periplasma y la membrana interna. El hierro se libera y el hidroxamato puede salir de la célula y utilizarse de nuevo para el transporte de hierro.

Algunas bacterias patógenas utilizan mecanismos fundamentalmente diferentes que incluyen receptores específicos que se unen a la transferrina y lactoferrina del hospedador (al igual que a otras proteínas del hospedador que contienen hierro). El hierro se retira y transporta hacia el interior de la célula por un proceso dependiente de energía.

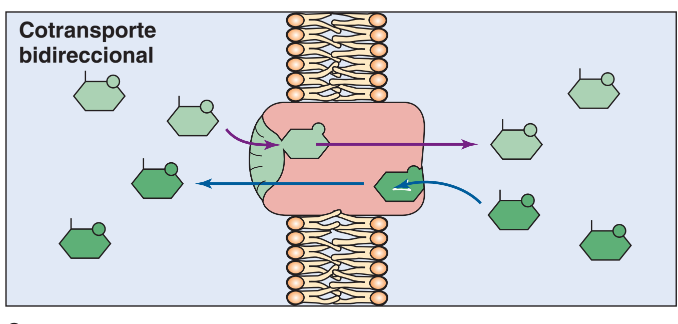
2. Transporte de electrones y fosforilación oxidativa. Los citocromos y otras enzimas y componentes de la cadena respiratoria incluyen ciertas deshidrogenasas que se ubican en la membrana celular. La membrana celular bacteriana es un análogo funcional a la membrana mitocondrial, una relación que muchos biólogos han considerado como la base para la teoría de que las mitocondrias evolucionaron a partir de bacterias simbióticas. En el capítulo 6 se revisa el



A



B



C

FIGURA 2-12 Tres tipos de transportadores: **A:** Transportadores simples, **B:** Transportadores en paralelo y **C:** Cotransporte bidireccional. Los transportadores simples catalizan el transporte de una sola sustancia en forma independiente de otras; los transportadores en paralelo catalizan el cotransporte pero sustancias diferentes (por lo común un soluto y un ion con carga positiva, H^+) en la misma dirección y los transportadores antiparalelos catalizan el transporte de intercambio de dos solutos similares en direcciones opuestas. Una proteína de transporte simple puede catalizar sólo uno de estos procesos, dos de estos procesos o incluso los tres procesos, dependiendo de las condiciones. Los transportadores simples, en paralelo y antiparalelo parecen tener similitudes estructurales y evolución relacionada y por lo tanto funcionan por mecanismos similares. (Reproducida con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. ASM News 1997;63:13.)

mecanismo por el cual la generación de ATP se acopla con el transporte de electrones.

3. Excreción de exoenzimas hidrolíticas y patogenia de las proteínas. Todos los organismos que dependen de polímeros orgánicos macromoleculares como fuente energética (p. ej., proteínas, polisacáridos, lípidos) excretan enzimas hidrolíticas que desdoblan los polímeros hasta subunidades lo suficientemente pequeñas para penetrar la membrana celular. Los animales superiores secretan tales enzimas en la luz del tubo digestivo; las bacterias (tanto grampositivas como gramnegativas) las secretan directamente al medio externo o en el espacio periplasmático entre la capa de peptidoglucano y la membrana externa de la pared celular en el caso de las bacterias gramnegativas (véase la sección Pared celular, adelante).

En las bacterias grampositivas, las proteínas se secretan directamente, en tanto que las proteínas secretadas por las bacterias gramnegativas deben atravesar también la membrana externa. Se han descrito seis vías de secreción de proteínas en las bacterias: sistemas de secreción tipos I, II, III, IV, V y VI. En la figura 2-13 se muestra un esquema de los sistemas tipos I a V. Los sistemas de secreción tipos I y IV se han descrito para bacterias grampositivas y gramnegativas, en tanto que los sistemas de tipos II, III, V y VI se han encontrado sólo en bacterias gramnegativas. Las proteínas secretadas por las vías tipo I y tipo III atraviesan la membrana interna (IM, *inner membrane*) y la membrana externa (OM, *outer membrane*) en un paso, pero las proteínas secretadas por las vías tipo II y tipo V, atraviesan la IM y la OM en pasos separados. Las proteínas secretadas por las vías de tipo II y V se sintetizan en ribosomas citoplásmicos como preproteínas que contienen una **secuencia principal** adicional o una **secuencia de señales** de 15 a 40 aminoácidos (más a menudo casi 30 aminoácidos) en el extremo amino terminal y requieren un sistema secundario para el transporte a través de la IM. En la *E. coli*, la vía secundaria comprende varias proteínas IM (SecD hasta SecF, SecY), una ATPasa asociada con la membrana celular (SecA) que proporciona energía para su exportación, una proteína **chaperona** (SecB) que se une a las preproteínas y una **peptidasa de señal** periplasmática. Después de la translocación, la secuencia principal sufre desdoblamiento por la peptidasa de señal unida a la membrana y se libera la proteína madura hacia el espacio periplasmático. Por el contrario, las proteínas secretadas por los sistemas de tipos I y III no tienen una secuencia principal y se exportan intactas.

En las bacterias gramnegativas y grampositivas, otro sistema de translocación de la membrana plasmática conocida como **vía *tat***, puede desplazar proteínas a través de la membrana plasmática. En las bacterias gramnegativas dichas proteínas son suministradas al sistema tipo II (figura 2-13). La vía *tat* es diferente al sistema *sec* porque transporta proteínas ya plegadas.

Aunque las proteínas secretadas por los sistemas tipos II y V son similares en cuanto al mecanismo por el cual cruzan la membrana interna, existen diferencias en la forma en que atraviesan la OM. Las proteínas secretadas por el sistema tipo II se transportan a través de la OM por un complejo multiproteínico (figura 2-13). Esta es la principal vía para la secreción de las enzimas de degradación extracelular por parte de las bacterias gramnegativas. La elastasa, fosfolipasa C y exotoxina A son secretadas por este sistema en la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, las proteínas secretadas por los sistemas tipo V se autotransportan a través de la membrana externa en virtud de una secuencia carboxilo terminal, que es eliminada por medios enzimáticos hasta la liberación de la proteína desde la membrana externa. Algunas proteínas extracelulares (p. ej., la proteasa IgA de *Neisseria gonorrhoeae* y la citotoxina que forma vacuolas de *Helicobacter pylori)* son secretadas a través de este sistema.

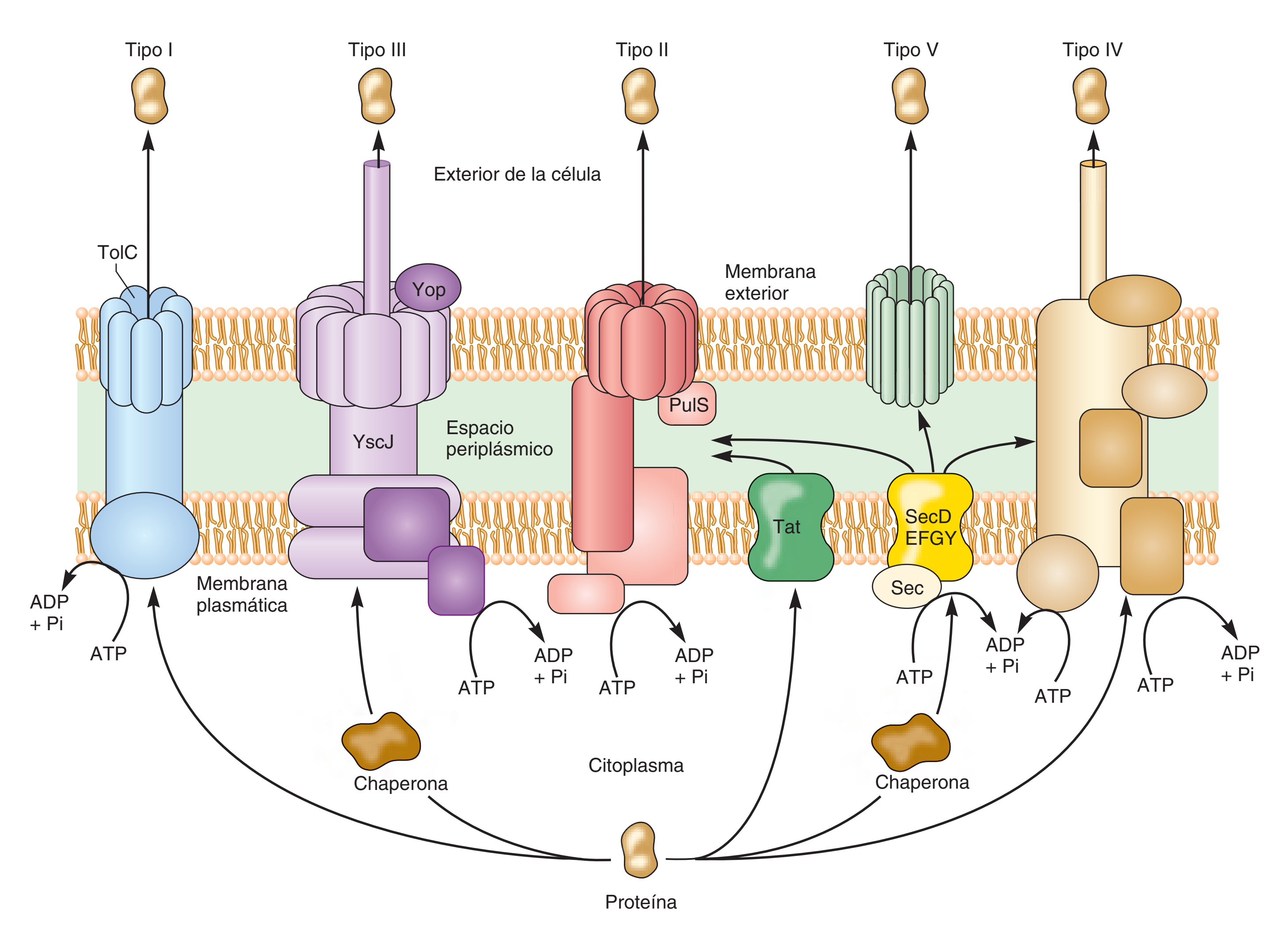


FIGURA 2-13 Sistemas de secreción de proteínas de bacterias gramnegativas. Se muestran cinco sistemas de secreción de las bacterias gramnegativas. Las vías dependientes de Sec y Tat suministran proteínas del citoplasma al espacio periplásmico. Los sistemas de tipos II, V y en ocasiones el IV completan el proceso de secreción por una vía dependiente de Sec. El sistema Tat parece suministrar proteínas sólo a la vía de tipo II. Los sistemas de tipos I y III evitan las vías dependientes de Sec y Tat, desplazando proteínas directamente del citoplasma a través de la membrana externa y hacia el espacio extracelular. El sistema de tipo IV puede trabajar ya sea con una vía dependiente de Sec o puede trabajar sola para transportar proteínas al espacio extracelular. Las proteínas translocadas por la vía dependiente de Sec y la vía de tipo III son suministradas a estos sistemas por proteínas chaperonas. ADP, adenosin difosfato; ATP, adenosin trifosfato; EFGY; PulS; SecD, TolC; Yop. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology,* 7a. ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Will Companies, Inc.)

Las vías de secreción de tipos I y III son independientes de *sec* y por lo tanto no incluyen el procesamiento del extremo aminoterminal de las proteínas secretadas. La secreción de proteínas por estas vías ocurre en forma de un proceso continuo sin la presencia de un intermediario citoplásmico. La secreción de tipo I se ejemplifica con la hemolisina α de *E. coli* y la adenilil-ciclasa de la *Bordetella pertussis.* La secreción de tipo I requiere de tres proteínas secretoras: un casete de unión a ATP en la membrana interna (transportador ABC), que proporciona energía para la secreción de proteínas; una proteína de membrana externa y una proteína de difusión de membrana, que se encuentra fija a la membrana interna y abarca la totalidad del espacio periplasmático (figura 2-13). En lugar del péptido de señalización, la información se ubica en los 60 aminoácidos del extremo carboxilo terminal de la proteína secretada.

La vía de secreción de tipo III es un sistema **dependiente del contacto**, que se activa por el contacto con una célula del hospedador y a continuación se inyecta una proteína tóxica directamente a la célula hospedadora. El aparato de secreción de tipo III está compuesto por casi 20 proteínas, la mayor parte de las cuales se ubican al nivel de la membrana interna. La mayor parte de estos componentes de la IM son homólogos al aparato de biosíntesis flagelar de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Al igual que la secreción de tipo I, las proteínas secretadas por la vía de tipo III no son objeto de procesamiento en el extremo amino terminal durante su secreción.

La vía de tipo IV secreta toxinas polipeptídicas (dirigidas contra células eucariotas) o complejos de proteína-DNA ya sea entre dos células bacterianas o entre una célula bacteriana y una célula eucariota. Un ejemplo de la secreción de tipo IV

es el suministro del complejo de proteína-DNA por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* en una célula vegetal. Además, *B. pertussis* y *H. pylori* poseen sistemas de secreción tipo IV que median la secreción de la toxina de la tos ferina y el factor inductor de interleucina-8, respectivamente. La secreción de tipo VI independiente de *sec* fue descrita en fechas recientes en *P. aeruginosa,* donde contribuye a la patogenicidad en pacientes con fibrosis quística. Este sistema de secreción está compuesto por 15 a 20 proteínas cuya función bioquímica no se comprende por completo. Sin embargo, estudios recientes sugieren que algunas de tales proteínas comparten homología con proteínas de la cola de bacteriófagos.

Las características de los sistemas de secreción de proteínas de bacterias se resumen en el cuadro 9-5.

4. Funciones de biosíntesis. La membrana celular es el sitio de los lípidos transportadores sobre los cuales se ensamblan las subunidades de la pared celular (véase la revisión de la síntesis de las sustancias que forman la pared celular en el capítulo 6) así como de la biosíntesis de las enzimas de la pared celular. Las enzimas para la síntesis de fosfolípidos también se ubican en la membrana celular.

5. Sistemas quimiotácticos. Las sustancias con capacidad de atracción y repulsión se unen a receptores específicos en la membrana bacteriana (véase la sección Flagelos, adelante). Hay al menos 20 quimiorreceptores diferentes en la membrana de *E. coli,* algunos de los cuales también actúan como el primer paso en el proceso de transporte.

Pared celular

La presión osmótica interna de la mayor parte de las bacterias varía de 5 a 20 atm como consecuencia de la concentración de solutos por medio del transporte activo. En la mayor parte de los entornos, esta presión sería suficiente para hacer estallar la célula si no se contara con la presencia de una pared celular con fuerza tensil elevada (figura 2-14). La pared celular bacteriana debe su resistencia a una capa compuesta de diversas sustancias conocidas como **mureína**, **mucopéptidos** o **peptidoglucanos** (todos son sinónimos). La estructura de los peptidoglucanos se revisa adelante.

La mayor parte de las bacterias se clasifican como grampositivas o gramnegativas con base en su respuesta al procedimiento de tinción de Gram. El procedimiento recibió su nombre por el histólogo, Hans Christian Gram, quien desarrolló este procedimiento de tinción diferencial en un intento para teñir las bacterias en tejidos infectados. La tinción de Gram depende de la capacidad de ciertas bacterias (grampositivas) para retener un complejo de cristales de color violeta (un colorante de color violáceo) además de yodo después de un breve lavado con alcohol o acetona. Las bacterias gramnegativas no retienen el complejo de colorante-yodo y se vuelven translúcidas, pero pueden volverse a teñir con safranina (un colorante de color rojo). Así, las bacterias grampositivas adquieren un aspecto violáceo bajo el microscopio, en tanto que las bacterias gramnegativas se ven de color rojo. La diferenciación entre estos dos grupos refleja diferencias fundamentales en sus envolturas celulares (cuadro 2-1).

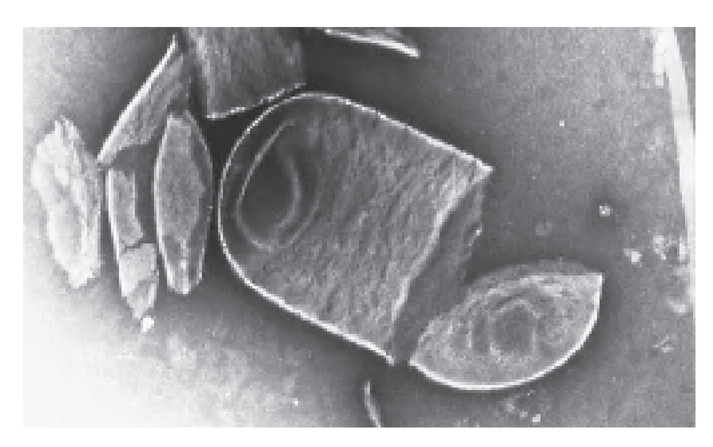


FIGURA 2-14 La pared celular rígida determina la forma de la bacteria. Aunque se ha separado la célula, la pared celular conserva su forma original (cortesía de Dale C. Birdsale).

CUADRO 2-1 Comparación de las características de las bacterias grampositivas y gramnegativas

	Grampositivas	Gramnegativas
Color de la célula después de la tinción de Gram	Violeta	Rojizo-rosado
Género representativo	*Bacillus, Staphylococus, Streptococcus*	*Escherichia, Neisseria, Pseudomonas*
Componentes y estructuras distintivas		
Peptidoglucano	Capa gruesa	Capa delgada
Ácido teicoico	Presente	Ausente
Membrana externa	Ausente	Presente
Lipopolisacáridos (endotoxinas)	Ausente	Presente
Proteínas porinas	Ausentes (innecesarias porque carecen de membrana externa)	Presentes; permiten el paso de moléculas a través de la membrana externa
Periplasma	Ausente	Presente
Características generales		
Sensibilidad a penicilina	Generalmente más susceptibles (con notables excepciones)	Por lo general poco susceptibles (con notables excepciones)
Sensibilidad a las lisozimas	Sí	No

apter 02_Carroll_4R.indd 23 14/04/16

Además de brindar protección osmótica, la pared celular desempeña una función esencial en la división celular, también sirve como preparador para su propia biosíntesis. Varias capas de la pared son sitios de determinantes antigénicos mayores de la superficie celular y uno de sus componentes (los lipopolisacáridos de las paredes celulares de bacterias gramnegativas) son causantes de la actividad endotóxica inespecífica de las bacterias gramnegativas. En términos generales, la pared celular no muestra permeabilidad selectiva; sin embargo, una capa de la pared gramnegativa (la membrana externa) evita el paso de moléculas relativamente grandes (véase más adelante).

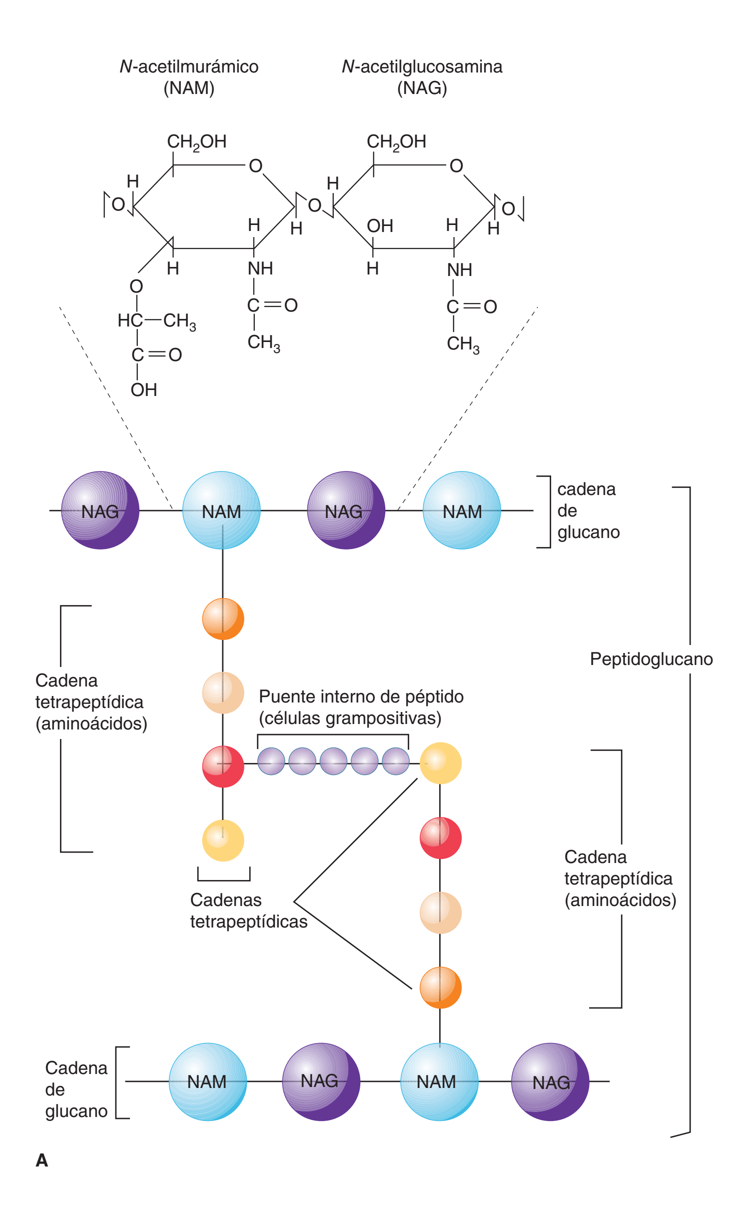
La biosíntesis de la pared celular y los antibióticos que interfieren en el proceso se revisan en el capítulo 6.

A. Capa de peptidoglucanos

El peptidoglucano es un polímero complejo que consiste, con fines de descripción, de tres partes: una estructura básica, compuesta de moléculas alternadas de *N*-acetilglucosamina y de ácido *N*-acetilmurámico unidas por enlaces beta 1→4 y un grupo idéntico de enlaces peptídicos cruzados (figura 2-15). La estructura básica es la misma en todas las especies bacterianas; las cadenas tetrapeptídicas laterales y los enlaces peptídicos varían de una especie a otra. En muchas paredes celulares de bacterias gramnegativas, los enlaces cruzados consisten de unión peptídica directa entre el grupo amino de una cadena lateral del ácido diaminopimélico (DAP) y el grupo carboxilo terminal de la cadena secundaria lateral de D-alanina.

Las cadenas laterales tetrapeptídicas de todas las especies tienen ciertas características importantes en común. La mayor parte tiene L-alanina en la posición 1 (unida al ácido *N*-acetilmurámico), D-glutamato o la sustitución de D-glutamato en la posición 2 y D-alanina en la posición 4. La posición 3 es la más variable: la mayor parte de las bacterias gramnegativas tienen ácido diaminopimélico u otro aminoácido en dicha posición.

El **ácido diaminopimélico** es un elemento singular en las paredes celulares bacterianas; nunca se encuentra en las paredes celulares de las *arqueobacterias* o de células eucariotas; es el precursor inmediato de la glicina en la biosíntesis bacteriana



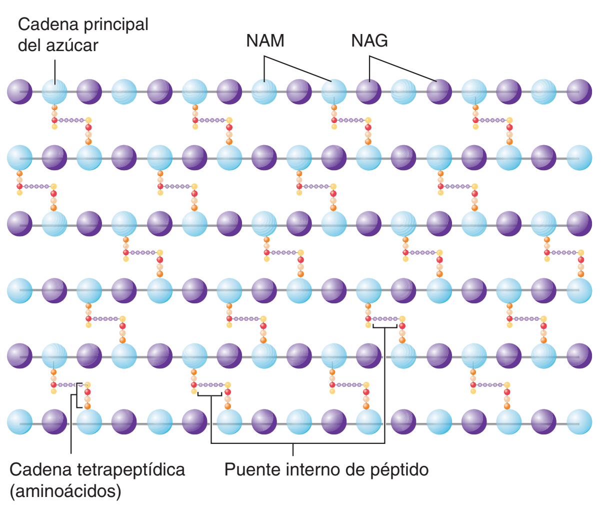


FIGURA 2-15 Componentes y estructuras del peptidoglucano. **A:** Estructura química de la N-acetilglucosamina (NAG) y de ácido N-acetilmurámico (NAM); las estructuras anulares de las dos moléculas corresponden a glucosa. Las cadenas de glucanos están compuestas de subunidades alternantes de NAG y NAM unidas con enlaces covalentes. Las cadenas adyacentes de glucanos tienen enlaces cruzados a través de sus cadenas tetrapeptídicas para crear peptidoglucano. **B:** Cadenas de glucano interconectadas que forman una molécula tridimensional muy grande de peptidoglucano. Los enlaces β1→ 4 en el esqueleto molecular son desdoblados por acción de las lisosomas (reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT: Microbiology: A Human Perspective, 6a. Ed. McGraw-Hill; 2009).

de dicho aminoácido (figura 6-19). Los mutantes bacterianos que son bloqueados antes de la síntesis de ácido diaminopimélico por lo común proliferan de forma normal cuando se encuentra dicho ácido en su entorno; cuando se administra L-glicina sola se destruyen, porque continúan proliferando pero son específicamente incapaces de sintetizar nuevo peptidoglucano para su pared celular.

El hecho de que las cadenas de peptidoglucanos tengan enlaces cruzados significa que cada capa de peptidoglucanos tiene una sola molécula gigante. En una bacteria grampositiva hay hasta 40 hojas de peptidoglucanos, lo que constituye hasta 50% del material de la pared celular; en las bacterias gramnegativas parece haber sólo una o dos hojas, lo que constituye 5 a 10% del material de la pared. La bacteria adquiere su forma, que es característica para cada especie en particular, por la estructura de su pared celular.

B. Componentes especiales de las paredes celulares de bacterias grampositivas

La mayor parte de las paredes celulares de las bacterias grampositivas contienen cantidades considerables de **ácidos teicoico** y **teicurónico**, los cuales pueden constituir hasta 50% del peso seco de la pared y 10% del peso seco de la totalidad de la célula. Además, algunas paredes de bacterias grampositivas pueden contener moléculas de polisacáridos.

1. Ácidos teicoico y teicurónico. El término *ácido teicoico* abarca la totalidad de la pared celular, membrana o polímeros capsulares que contienen glicerofosfato o residuos de ribitol fosfato. Estos polialcoholes están conectados por enlaces fosfodiéster y por lo común se encuentran unidos con otros carbohidratos y con D-alanina (figura 2-16A). Como tienen carga negativa, el ácido teicoico es en parte la causa de la carga negativa de la superficie celular en su conjunto. Hay dos tipos de ácidos teicoico: ácido teicoico de la pared **(WTA**, **wall teichoic acid)** que tiene unión covalente con los peptidoglucanos y **ácido teicoico de la membrana** que tiene unión covalente con glucolípidos de la membrana. Como estos últimos tienen asociación estrecha con los lípidos, también se han denominado ácidos lipoteicoicos **(LTA**, **lipoteichoic acids)**. En conjunto con los peptidoglucanos, WTA y LTA constituyen una red polianiónica o matriz que proporciona funciones relacionadas con la elasticidad, porosidad, fuerza tensil y propiedades electrostáticas de la envoltura. No todas las bacterias grampositivas tienen LTA y WTA convencionales, pero aquellas que carecen de tales polímeros por lo común son similares desde el punto de vista funcional.

La mayor parte de los ácidos teicoicos contienen grandes cantidades de D-alanina, por lo común unida a la posición 2 o 3 del glicerol o a la posición 3 o 4 del ribitol. En algunos ácidos teicoicos más complejos la D-alanina se une a uno de los residuos de azúcar. Además de la D-alanina, otros sustitutos pueden unirse a los grupos hidroxilo libres del glicerol y ribitol (por ejemplo, glucosa, galactosa, *N*-acetilglucosamina, *N*-acetilgalactosamina o succinato). Una especie dada puede tener más de un tipo de azúcar sustituto además de la D-alanina; en tales casos, no se sabe si los diferentes carbohidratos se presentan en la misma molécula o en moléculas separadas de ácido

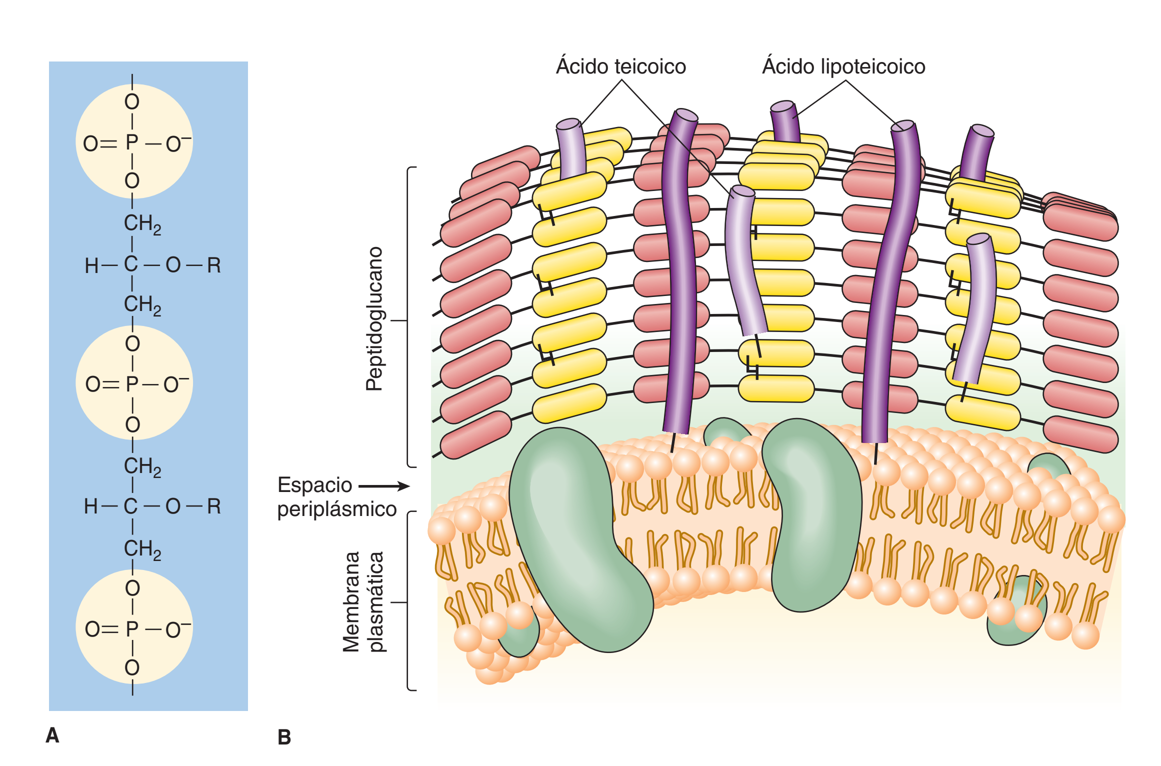


FIGURA 2-16 **A:** Estructura del ácido teicoico. Segmento de ácido teicoico constituido por fosfato, glicerol y una cadena lateral, R. R puede representar a D-alanina, glucosa u otras moléculas. **B:** Ácidos teicoico y lipoteicoico de una envoltura de una bacteria grampositiva. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology,* 7a. ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2008.)

teicoico. La composición del ácido teicoico formado por una especie bacteriana dada puede variar con la composición del medio en el cual es cultivada.

Los ácidos teicoicos constituyen la principal superficie de los antígenos de aquellas especies de bacterias grampositivas que los poseen y su accesibilidad para los anticuerpos se ha tomado como evidencia de que se encuentran en la superficie externa del peptidoglucano. Sin embargo, su actividad a menudo se incrementa por la digestión parcial de este último; así, gran parte del ácido teicoico puede encontrarse entre la membrana citoplásmica y la capa del peptidoglucano, tal vez extendiéndose a través de los poros formados en esta última (figura 2-16B). En el neumococo (*Streptococcus pneumoniae)* los ácidos teicoicos portan antígenos determinantes llamados antígeno Forssman. En el *Streptococcus pyogenes,* LTA se asocia con la proteína M que protruye desde la membrana celular a través de la capa de peptidoglucanos. Las largas moléculas de proteína M junto con LTA forman microfibrillas que facilitan la unión de *S. pyogenes* a las células animales (véase capítulo 14).

Los **ácidos teicurónicos** son polímeros similares, pero repiten unidades, lo que incluye carbohidratos ácidos (como *N*-acetilmanosurónico o ácido D-glucosurónico) en lugar de ácido fosfórico. Se sintetizan en lugar de los ácidos teicoicos cuando hay limitación en la disponibilidad de fosfato.

2. Polisacáridos. La hidrólisis de paredes celulares de bacterias grampositivas de ciertas especies ha permitido la obtención de carbohidratos neutros como manosa, arabinosa, ramnosa y glucosamina, además de azúcares ácidos como el ácido glucurónico y ácido manurónico. Se ha propuesto que dichos carbohidratos existen como subunidades de polisacáridos en la pared celular; sin embargo, el descubrimiento de que los ácidos teicoico y teicurónico pueden contener diversos carbohidratos hace incierto el origen de tales azúcares (figura 2-6A).

C. Componentes especiales de las paredes celulares de bacterias gramnegativas

Las paredes celulares de bacterias gramnegativas contienen tres componentes que se encuentran fuera de la capa de peptidoglucanos: lipoproteínas, membrana externa y lipopolisacáridos (figura 2-17).

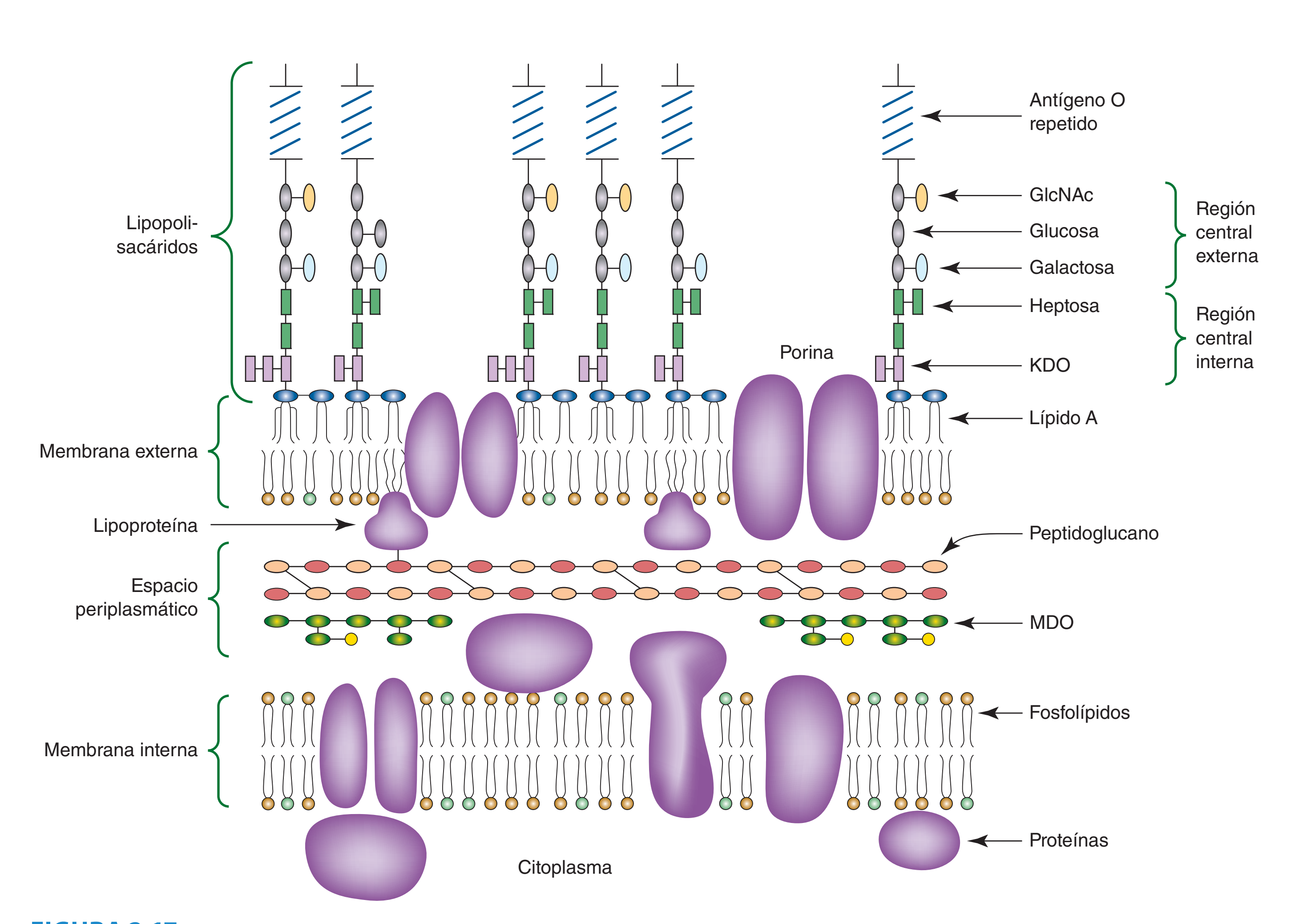


FIGURA 2-17 Representación molecular de la envoltura de una bacteria gramnegativa. Los *óvalos* y *rectángulos* representan residuos de carbohidratos; los círculos ilustran el extremo polar de los grupos de los glicerofosfolípidos (fosfatidiletanolamina y fosfatidilglicerol). Las regiones centrales que se muestran corresponden a *Escherichia coli* K-12, una cepa que en condiciones normales no contiene un antígeno O repetido a menos que se transforme con un plásmido apropiado. MDO, oligosacáridos derivados de la membrana. (Reproducida con autorización de Raetz CRH: Bacterial endotoxins: Extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol* 1993;175:5745.)

1. Membrana externa. La membrana externa es diferente desde el punto de vista químico de todas las demás membranas biológicas. Es una estructura con bicapa cuya hoja interna tiene una composición similar a la de la membrana celular, en tanto que la hoja externa contiene un constituyente diferente, **lipopolisacáridos** (LPS, *lipopolysaccharide)* (véase adelante). Como consecuencia, las hojas de esta membrana son asimétricas y las propiedades de esta bicapa difieren considerablemente de las que se observan en las membranas biológicas simétricas, como en las membranas celulares.

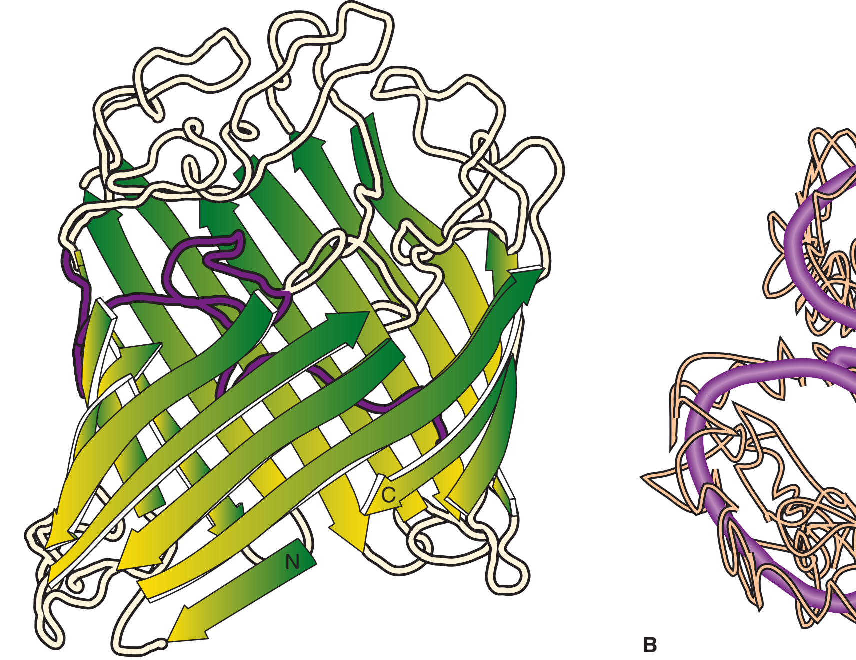
La capacidad de la membrana externa para que excluya moléculas hidrófobas es una característica poco común entre las membranas biológicas y sirve para proteger a la célula (en el caso de bacterias entéricas) de sustancias nocivas, como las sales biliares. Por su naturaleza lipídica, es de esperarse que la membrana externa excluya también a moléculas hidrofílicas. Sin embargo, dicha membrana posee conductos especiales, formados por proteínas denominadas **porinas**, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrofílicos de bajo peso molecular como azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membrana externa con relativa lentitud, lo que explica la resistencia relativamente elevada a los antibióticos de las bacterias gramnegativas. La permeabilidad de la membrana externa varía ampliamente de un género bacteriano a otro; por ejemplo, *P. aeruginosa* es extremadamente resistente a los fármacos antibacterianos y tiene una membrana externa que es 100 veces menos permeable que la de *E. coli*.

Las proteínas principales de la membrana externa reciben su nombre con base en los genes que las codifican, y se han clasificado en varias categorías funcionales con base en los mutantes que carecen de las mismas y con base en experimentos en los cuales se han reconstituido proteínas purificadas en membranas artificiales. Las porinas, ejemplificadas por OmpC, D y F y por PhoE de *E. coli* y de *Salmonella typhimurium* son proteínas triméricas que penetran ambas capas de la membrana externa (figura 2-18). Éstas forman poros relativamente inespecíficos que permiten la libre difusión de solutos hidrofílicos pequeños a través de la membrana. Las porinas de diferentes géneros bacterianos tienen diferentes límites de exclusión, que van desde pesos moleculares de casi 600 en *E. coli* y *S. typhimurium* a más de 3000 en *P. aeruginosa*.

Los miembros de un segundo grupo de proteínas de la membrana externa, que se comportan como porinas en muchas formas, se ejemplifican con LamB y Tsx. La primera es una porina inducible que también actúa como receptor para el bacteriófago lambda y que participa en la mayor parte de la difusión transmembrana de maltosa y maltodextrinas; Tsx, el receptor para el bacteriófago T6 participa en la difusión transmembrana de nucleósidos y de algunos aminoácidos. LamB permite el paso de otros solutos; sin embargo, su relativa especificidad puede reflejar debilidad en las interacciones de solutos con sitios específicos de configuración en el conducto.

La proteína OmpA es una proteína abundante en la membrana externa. Participa en la fijación de la membrana externa a la capa de peptidoglucanos y también se encuentra en el pelo sexual receptor de la conjugación bacteriana mediada por F (capítulo 7).

La membrana externa también contiene un grupo de proteínas menos abundantes que participan en el transporte de moléculas específicas, como vitamina B_{12} y complejos de



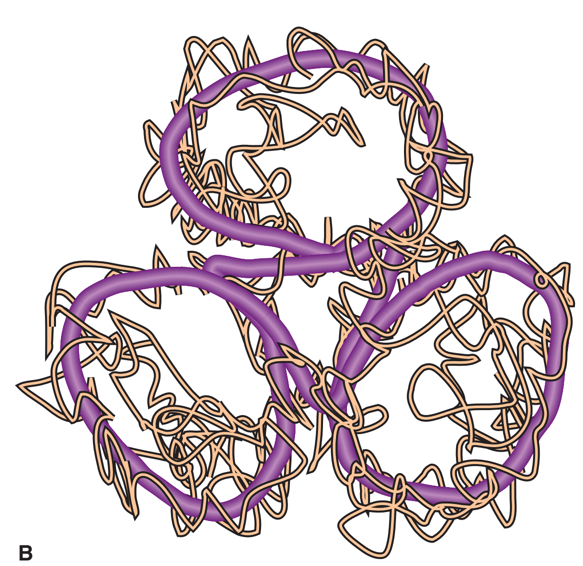


FIGURA 2-18 **A:** Plegamiento general de un monómero de porina (porina OmpF de *Escherichia coli).* El gran hueco en la estructura cilíndrica β se forma por la disposición antiparalela de tiras 16 β. Las tiras se conectan por asas cortas o patrones regulares en el borde periplásmico (porción *inferior* de la figura) y grandes asas irregulares en el exterior de la célula (porción *superior* de la figura). El asa interna conecta las tiras β 5 y 6 y se extiende hacia el interior del cilindro, lo que se resalta en color oscuro. Se marcaron las cadenas terminales. La superficie más cercana al observador participa en las subunidades de contacto. **B.** Representación esquemática del trímero OmpF. Se observa desde el espacio extracelular sobre su eje de simetría trirradiado. (Reproducida con autorización de Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101.)

hierro-sideróforo. Muestran gran afinidad por sus sustratos y probablemente actúen como sistemas de transporte en forma de acarreadores clásicos de la membrana citoplásmica. Para el funcionamiento correcto de estas proteínas se requiere energía acoplada a través de una proteína denominada TonB. Las proteínas menores adicionales incluyen un número limitado de enzimas, entre ellas las fosfolipasas y proteasas.

En la figura 2-17 se muestra la topología de las principales proteínas de la membrana externa, basada en estudios de enlaces cruzados y análisis de relaciones funcionales. La membrana externa se conecta a la capa de peptidoglucanos y a la membrana citoplásmica. La conexión con la capa de peptidoglucanos está mediada principalmente por lipoproteínas de la membrana externa (véase adelante). Casi una tercera parte de las moléculas de lipoproteínas tienen enlace covalente con los peptidoglucanos y ayudan a mantener las estructuras juntas. Una asociación no covalente de algunas de las porinas en la capa del peptidoglucano desempeña una función menor en conectar las membranas externas con esta estructura. Las proteínas de la membrana externa se sintetizan en los ribosomas unidos a la superficie citoplásmica de la membrana celular; sin embargo, aún se desconoce la forma en que se transfieren a la membrana externa, una hipótesis sugiere que la transferencia ocurre en zonas de adhesión entre las membranas citoplásmica y externa, lo que puede observarse en la microscopia electrónica. Por desgracia, se ha demostrado que es difícil obtener evidencias firmes de la adhesión a tales áreas.

2. Lipopolisacáridos (LPS). Los LPS de las paredes celulares de bacterias gramnegativas consisten en un glucolípido complejo, denominado lípido A, el cual está unido a un polisacárido constituido por una porción central y series terminales de unidades repetidas (figura 2-19A). El lípido A se encuentra embebido en la hoja externa de la membrana a la cual se unen los LPS. Estos últimos se sintetizan en la membrana citoplásmica y se transportan a su posición exterior final. La presencia de LPS es necesaria para la función de muchas proteínas de la membrana externa.

El **lípido A** consiste en unidades de disacárido de glucosamina fosforilada a la cual se unen varios ácidos grasos de cadena larga (figura 2-19). El ácido β-hidroximirístico es un ácido graso de 14 carbonos que siempre está presente y es característico de este lípido; los otros ácidos grasos, junto con sus grupos sustitutos de fosfatos, varían de acuerdo al género bacteriano.

En la figura 2-19A y B se muestra la **región central** del polisacárido; éste es similar en la mayor parte de los géneros de

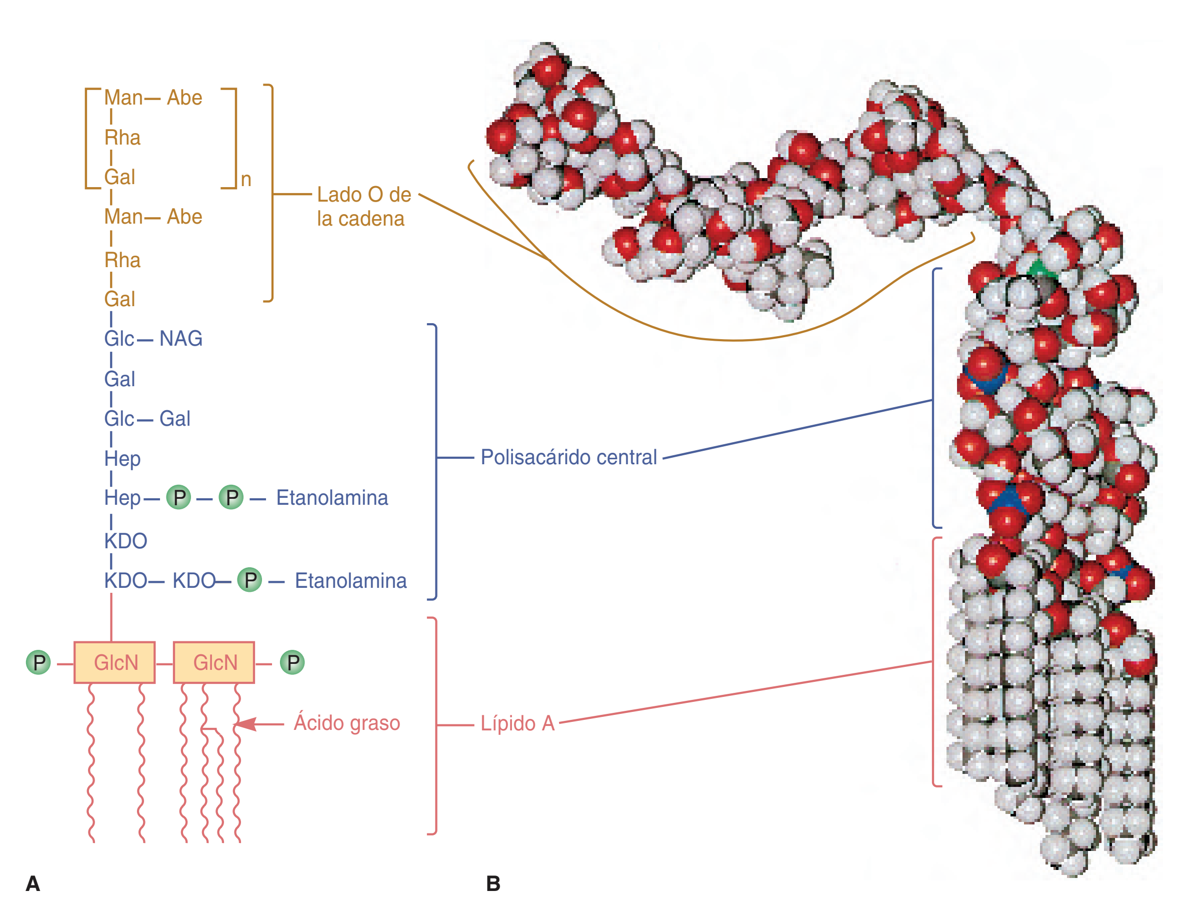


FIGURA 2-19 Estructura de los lipopolisacáridos. **A:** Lipopolisacárido de *Salmonella*. Este esquema ligeramente simplificado ilustra una forma de lipopolisacárido (Abe, abecuosa; Gal, galactosa; GlcN, glucosamina; Hep, heptulosa; KDO, 2-ceto-3 desoxioctonato; Man, manosa; NAG, *N*-acetilglucosamina; P, fosfato; Rha, L-ramnosa). El lípido A se encuentra sepultado en la membrana externa. **B:** Modelo molecular de lipopolisacárido de *Escherichia coli*. El lípido A y los polisacáridos centrales tienen una disposición recta; el lado O de la cadena se encuentra doblado en ángulo en este modelo. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology,* 7a. edition, McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Will Companies, Inc.)

bacterias gramnegativas que tienen LPS e incluyen dos azúcares característicos, el **ácido cetodesoxioctanoico** (KDO, *ketodeoxyoctanoic acid*) y una heptosa. Sin embargo, cada género bacteriano contiene una unidad de repetición singular y en la figura 2-19A se muestra la que se encuentra en bacterias del género *Salmonella*. Las unidades de repetición por lo común son disacáridos, tetrasacáridos o pentasacáridos lineales o ramificados. Las unidades de repetición se conocen como antígeno O. Las cadenas de carbohidratos hidrofílicos del antígeno O cubren la superficie bacteriana y excluyen los compuestos hidrófobos.

Las moléculas de LPS con carga negativa forman enlaces no covalentes por medio de cationes divalentes (p. ej., Ca^{2+} y Mg^{2+}); esto estabiliza la membrana y proporciona una barrera para las moléculas hidrófobas. El retiro de los cationes divalentes con sustancias quelantes o por el desplazamiento con antibióticos policatiónicos, como las polimixinas y aminoglucósidos, hacen permeable la membrana externa a las moléculas hidrófobas grandes.

Los LPS que son extremadamente tóxicos para los animales se denominan **endotoxinas** de bacterias gramnegativas porque se encuentran firmemente unidas a la superficie celular y se liberan sólo cuando las células sufren lisis. Cuando los LPS se desdoblan en polisacáridos y lípido A, toda la toxicidad se relaciona con este último. El antígeno O es muy inmunógeno en animales vertebrados. Se confiere especificidad antigénica por el antígeno O porque éste es muy variable entre las especies e incluso en cepas de una misma especie. El número de posibles tipos antigénicos es muy grande: solamente de *Salmonella* se han identificado más de 1 000. No todas las bacterias gramnegativas tienen LPS en la membrana externa compuesta por números variables de unidades repetidas de oligosacáridos (figura 2-19); los glucolípidos de la membrana externa de las bacterias que colonizan las superficies mucosas (p. ej., *Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y *Haemophilus ducreyi*) poseen glucanos relativamente cortos, ramificados. Estos glucolípidos más pequeños se han comparado con las estructuras truncadas de LPS de "tipo R", que carecen de antígeno O y que son producidos por mutantes de bacterias entéricas como *E. coli*. Sin embargo, sus estructuras semejan más estrechamente aquellas de los glucoesfingolípidos de las membranas celulares de mamíferos y que se denominan de manera más apropiada como **lipooligosacáridos** (LOS, *lipooligosaccharides*). Tales moléculas muestran diversidad antigénica y estructural incluso en una sola cepa. Los lipooligosacáridos son un factor importante de virulencia. Se han identificado epítopos en todos los LOS que simulan estructuras del hospedador y que pueden permitir que estos microorganismos eviten la respuesta inmunitaria del hospedador. Algunos LOS (p. ej., los de *N. gonorrhoeae, N. meningitidis* y *H. ducreyi*) poseen residuos de *N*-acetillactosamina (Galβ-1→4-GlcNAc) que son similares desde el punto inmunoquímico a los precursores del antígeno i de los eritrocitos humanos. En presencia de una enzima bacteriana denominada sialiltransferasa y sustrato bacteriano o del hospedador (ácido monofosfo-*N*-acetilneuramínico-citidina; CMP-NANA) los residuos de *N*-acetillactosamina se encuentran sialilados. Este proceso ocurre *in vivo* y proporciona a los microorganismos en el entorno ventajas de simulación molecular con los antígenos del hospedador y hay un ocultamiento biológico a través del ácido siálico presente.

3. Lipoproteínas. Las moléculas poco comunes de **lipoproteínas** unen la membrana externa con las capas de peptidoglucanos (figura 2-17). Las lipoproteínas contienen 57 residuos de aminoácidos y constituyen repeticiones de secuencias de 15 aminoácidos; presentan enlaces peptídicos con residuos de DAP de las cadenas laterales de tetrapéptidos de peptidoglucanos. El componente lipídico consiste de tioéter de diglicérido unido a un residuo de cisteína terminal que forma un enlace no covalente con la membrana externa. Las lipoproteínas son la proteína más abundante desde el punto de vista numérico en las células gramnegativas (casi 700 000 moléculas por célula). Su función (que se infiere por la conducta de células mutantes que carecen de ellas) es estabilizar la membrana externa y fijarla a la capa de peptidoglucano.

4. Espacio periplásmico. El espacio entre las membranas interna y externa, conocido como **espacio periplásmico** contiene la capa de peptidoglucano y una solución de proteínas que se comporta como un gel. El espacio periplásmico representa casi 20 a 40% del volumen celular, lo que de ninguna manera es insignificante. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas fijadoras de sustratos específicos (p. ej., aminoácidos, azúcares, vitaminas y iones), enzimas hidrolíticas (p. ej., fosfatasa alcalina y 5′-nucleotidasa) que se desdoblan en sustratos no transportables hacia otros transportables además de incluir enzimas destoxificadoras (p. ej., lactamasa β y fosforilasa de aminoglucósidos) que inactivan ciertos antibióticos. El espacio periplásmico también contiene altas concentraciones de polímeros muy ramificados de D-glucosa con ocho a 10 residuos de longitud que han sustituido en varios sitios con fosfato de glicerol y residuos de fosfatidiletanolamina; algunos contienen ésteres de O-succinilo. Tales compuestos denominados **oligosacáridos derivados de la membrana** parecen participar en la regulación osmótica, porque las células que crecen en medios con baja osmolaridad incrementan su síntesis de estos compuestos en 16 veces.

D. Pared celular de bacterias acidorresistentes

Algunas bacterias, entre las que sobresale el bacilo tuberculoso (*M. tuberculosis*) y bacterias relacionadas poseen paredes celulares que contienen grandes cantidades de **ceras**, que consisten de hidrocarbonos ramificados complejos (con longitudes de 70 a 90 carbonos) conocidos como **ácidos micólicos**. La pared celular está compuesta de peptidoglucanos y una bicapa lipídica asimétrica externa; la hoja interna contiene ácidos micólicos unidos a arabinoglucanos y la hoja externa contiene otros lípidos extraíbles. Es una bicapa lipídica muy ordenada, en la cual las proteínas se encuentran embebidas formando poros llenos de agua a través de los cuales pasan con lentitud ciertos fármacos y nutrientes. Algunos compuestos también pueden penetrar los dominios lipídicos de la pared celular, aunque con gran lentitud. La estructura hidrófoba confiere a estas bacterias resistencia a muchos compuestos químicos como detergentes y ácidos fuertes. Si se introduce un colorante en estas células por un proceso de calentamiento breve o el tratamiento con detergentes, no puede eliminarse con la aplicación de ácido clorhídrico diluido, como ocurre con otras bacterias. Dichos microorganismos se denominan **acidorresistentes**. La

permeabilidad de la pared celular a las moléculas hidrofílicas es de 100 a 1 000 veces inferior que para *E. coli,* lo que puede explicar la tasa de crecimiento lenta de las micobacterias.

E. Pared celular de las arqueobacterias

Las *arqueobacterias* no poseen paredes celulares como las *bacterias*. Algunas poseen una capa S simple (véase adelante) a menudo constituida por glucoproteínas. Algunas *arqueobacterias* tienen pared celular rígida compuesta de polisacáridos o de un peptidoglucano conocido como **seudomureína**. Esta última difiere de los peptidoglucanos de las bacterias porque tiene aminoácidos levógiros (L^-) en lugar de aminoácidos dextrógiros (D^-) y unidades de disacáridos con enlaces α-1→3 en vez de β-1→4. Las *arqueobacterias* que tienen una pared celular de seudomureína son grampositivas.

F. Capas superficiales cristalinas

Muchas bacterias, tanto grampositivas, gramnegativas y arqueobacterias, poseen una capa bidimensional de subunidades cristalinas con disposición en entramado formada por proteínas o glucoproteínas (**capa S**) como los componentes más externos de la envoltura celular. En bacterias grampositivas y gramnegativas esta estructura en ocasiones tiene el grosor de varias moléculas. En algunas *arqueobacterias* sólo existe una capa externa a la membrana celular.

Las capas S por lo general están compuestas por una molécula proteínica de un solo tipo, en ocasiones con carbohidratos unidos a ésta. Las moléculas aisladas son capaces de ensamblarse a sí mismas, es decir forman hojas similares o idénticas a las que presentan las células. Las proteínas de la capa S son resistentes a las enzimas proteolíticas y a los agentes desnaturalizadores de proteínas. La función de la capa S es incierta pero probablemente sea protectora. En algunos casos se ha demostrado que protege a la célula de las enzimas que degradan la pared celular, de la invasión por *Bdellovibrio bacteriovorous* (una bacteria depredadora) y de bacteriófagos. También participan en la conservación de la forma celular en algunas especies de arqueobacterias y pueden participar en la adhesión celular a las superficies epidérmicas del hospedador.

G. Enzimas que atacan la pared celular

El enlace β1→4 de la estructura básica de los peptidoglucanos sufre hidrólisis por acción de la enzima **lisozima** (figura 2-15), que se encuentra en las secreciones animales (lágrimas, saliva, secreciones nasales), así como en la clara del huevo. En bacterias grampositivas tratadas con lisozimas en medios de lisis con baja concentración osmótica, si la fuerza osmótica del medio de cultivo se incrementa para equilibrarla con la presión osmótica interna de la célula, se liberan cuerpos esféricos conocidos como **protoplastos**. La membrana externa de las paredes celulares de bacterias gramnegativas evita el acceso de las lisozimas a menos que haya alteración por agentes como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un compuesto que causa quelación de cationes divalentes; en medios de cultivo protegidos desde el punto de vista osmótico, las células tratadas con EDTA-lisozimas dan origen a **esferoplastos** que aún poseen residuos de complejos de pared celular gramnegativa, lo que incluye la membrana externa.

Las bacterias por sí mismas poseen varias **autolisinas**, enzimas hidrolíticas que desdoblan a los peptidoglucanos, lo que incluye muramidasas, glucosaminidasas, en repetidas asas y carboxipeptidasas. Tales enzimas catalizan el recambio o desdoblamiento de peptidoglucanos en bacterias; además, se presume que participan en el crecimiento de la pared celular y en el recambio y separación celulares, pero su actividad es más aparente durante la disolución de células muertas (autólisis).

Las enzimas que degradan la pared celular bacteriana también se encuentran en células que digieren la totalidad de la bacteria, por ejemplo protozoarios y células fagocíticas de animales superiores.

H. Crecimiento de la pared celular

Para la división celular es necesaria la síntesis de la pared celular; sin embargo, la incorporación de nuevo material de la pared celular varía con la forma de la bacteria. Las bacterias en forma de bacilos (p. ej., *E. coli, Bacillus subtilis*) tienen dos modos de síntesis de la pared celular; se introducen nuevos peptidoglucanos con un patrón helicoidal, lo que da origen a la formación de un tabique de división. Los cocos como *S. aureus* no parecen sufrir un modo de elongación para la síntesis de la pared celular. En su lugar se insertan nuevas moléculas de peptidoglucano en el sitio de división. Una tercera forma de crecimiento de la pared celular se ejemplifica con *S. pneumoniae,* que no es un verdadero coco, porque su forma no es completamente redonda, sino que tiene un aspecto ligeramente ovalado. *S. pneumoniae* sintetiza nueva pared celular al nivel del tabique, pero también en la región denominada anillos ecuatoriales (figura 2-20).

I. Protoplastos, esferoplastos y formas L

La eliminación de la pared bacteriana puede lograrse con hidrólisis con lisozimas o al bloquear la síntesis de peptidoglucano con un antibiótico como penicilinas. En los medios de cultivo con protección osmótica, tales tratamientos liberan **protoplastos** en las células bacterianas grampositivas y **esferoplastos** de las gramnegativas (los esferoplastos retienen la membrana externa y peptidoglucano retenido).

Si tales células son capaces de crecer y dividirse, se denominan **formas L**; éstas son difíciles de cultivar, por lo común requieren un medio de cultivo sólido con agar, además de encontrarse en un medio con la concentración osmótica adecuada. Las formas L se producen con mayor facilidad con la administración de penicilina que con lisozimas, lo que sugiere la necesidad de peptidoglucanos residuales.

Algunas formas L pueden cambiar a su forma basilar normal al eliminar el estímulo inductor. Así, son capaces de reiniciar la síntesis normal de la pared celular. Otras son estables y nunca presentan reversión. El factor que determina su capacidad para la reversión puede, de nuevo, ser la presencia de peptidoglucano residual, el cual en condiciones normales actúa como cebador para su propia biosíntesis.

Algunos géneros bacterianos producen formas L de manera espontánea. La formación espontánea o inducida por antibióticos de formas L en el hospedador puede producir infecciones crónicas, en la cual los microorganismos persistentes son secuestrados en regiones protegidas del cuerpo. Como las infecciones por formas L son relativamente resistentes al

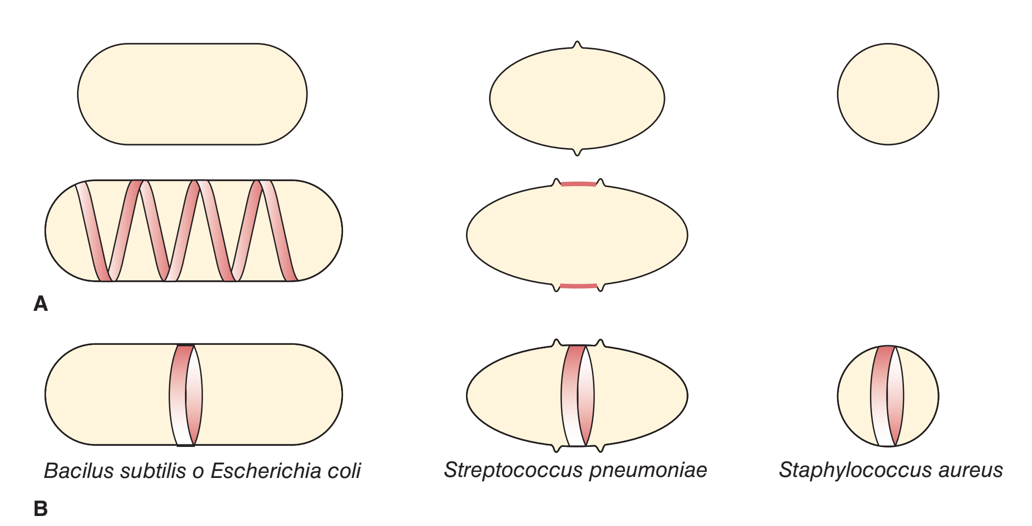


FIGURA 2-20 Incorporación de una nueva pared celular en bacterias de forma diferente. Las bacterias con forma de bacilo, como *Bacillus subtilis* o *Escherichia coli* tienen dos modos de síntesis de la pared celular: se introduce nuevo peptidoglucano en forma helicoidal (**A**), lo que da origen a la elongación de la pared lateral y se introduce en un anillo que se cierra alrededor del sitio de la futura división, lo que da origen a la formación del tabique de división (**B**). Los *Streptococcus pneumoniae* tienen forma oval y se elongan al insertar nuevo material en la pared celular de forma que se originan anillos ecuatoriales (**A**), que corresponden con la proliferación de la pared celular que rodea a la célula. El anillo inicial se duplica y los dos anillos resultantes se separan en forma progresiva, marcando el sitio de división futura de las células hijas. El tabique de división se sintetiza en la porción media de la célula (**B**). Las células redondas, como *Staphylococcus aureus,* no parecen tener un modo de elongación de la síntesis de la pared celular. En este caso se introduce nuevo peptidoglucano sólo en el tabique de división (**B**). (Reproducida con autorización de Scheffers DJ y Pinho MG: *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69:585.)

tratamiento con antibióticos, constituyen problemas especiales en la quimioterapia. Su reversión a la forma basilar puede producir recaídas de infecciones evidentes.

J. Micoplasmas

Los **micoplasmas** son bacterias que carecen de pared y que no contienen peptidoglucano (figura 25-1). Hay también *arqueobacterias* carentes de pared, pero se les ha estudiado menos. El análisis genómico coloca los micoplasmas cerca de las bacterias grampositivas, a partir de las cuales se derivaron. Los micoplasmas carecen de un sitio de acción para los fármacos antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared celular (p. ej., penicilinas y cefalosporinas) y por lo tanto son resistentes a tales fármacos. Algunos micoplasmas causantes de neumonía, como *Mycoplasma pneumoniae,* contienen esteroles en su membrana. La diferencia entre las formas L y los micoplasmas es que es posible la síntesis de mureína, por lo que las formas L pueden adquirir nuevamente su forma original de bacterias, lo que nunca ocurre con los micoplasmas.

Cápsula y glucocáliz

Muchas bacterias sintetizan grandes cantidades de polímeros extracelulares cuando crecen en sus ambientes naturales. Con una excepción conocida (cápsulas de ácido poli-D-glutámico de *Bacillus anthracis* y *Bacillus licheniformis*), el material extracelular es un polisacárido (cuadro 2-2). Los términos **cápsula** y **capa mucilaginosa** con frecuencia se utilizan para describir capas de polisacáridos; también se utiliza el término más incluyente, **glucocáliz** que se define como el material que se encuentra fuera de la célula y que contiene polisacáridos. Una capa condensada, bien definida que rodea en forma estrecha a la célula y que excluye partículas, como la tinta china, se conoce como cápsula (figura 2-21). Si el glucocáliz tiene una asociación laxa con la célula y no excluye partículas, se le denomina capa mucilaginosa. Los polímeros extracelulares son sintetizados en la superficie de la célula bacteriana. Por ejemplo, *Streptococcus mutans* utiliza dos enzimas (glucosiltransferasa y fructosiltransferasa) para la síntesis de dextranos de cadena larga (poli-D-glucosa) y levanos (poli-D-fructosa) a partir de sacarosa. Estos polímeros se denominan **homopolímeros**. Los polímeros que contienen más de un tipo de monosacáridos se denominan **heteropolímeros**.

La cápsula contribuye a la capacidad de invasión de la bacteria patógena; las células encapsuladas están protegidas de la fagocitosis a menos que estén cubiertas con anticuerpos anticapsulares. El glucocáliz participa en la adhesión bacteriana a las superficies en su entorno, lo que incluye células hospedadoras vegetales y animales. Por ejemplo, *S. mutans* posee la capacidad para adherirse estrechamente al esmalte de los dientes por medio de su glucocáliz. Las células bacterianas de la misma o de diferentes especies permanecen atrapadas en el glucocáliz, donde forman una capa conocida como placa dental; los productos ácidos excretados por estas bacterias causan caries dental (capítulo 10). La participación esencial del glucocáliz en este proceso y su formación a partir de sacarosa explican la correlación de la caries dental con el consumo de sacarosa en seres humanos. Como las capas de polisacáridos externas se unen a una cantidad significativa de agua, la capa de glucocáliz puede participar en la resistencia a la desecación.

Flagelos

A. Estructura

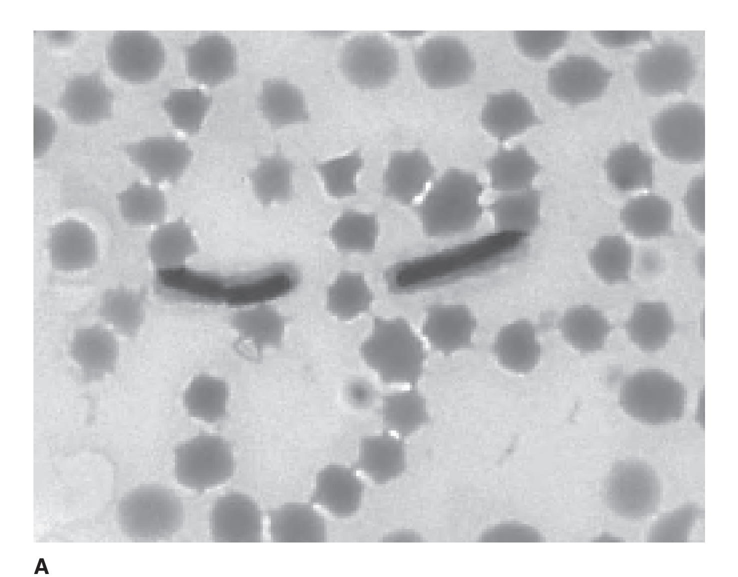
Los flagelos bacterianos son apéndices fusiformes compuestos en su totalidad por proteína, con un diámetro de 12 a 30 nm. Son órganos de locomoción para las estructuras que los poseen.

CUADRO 2-2 **Composición química del polímero extracelular en bacterias selectas**

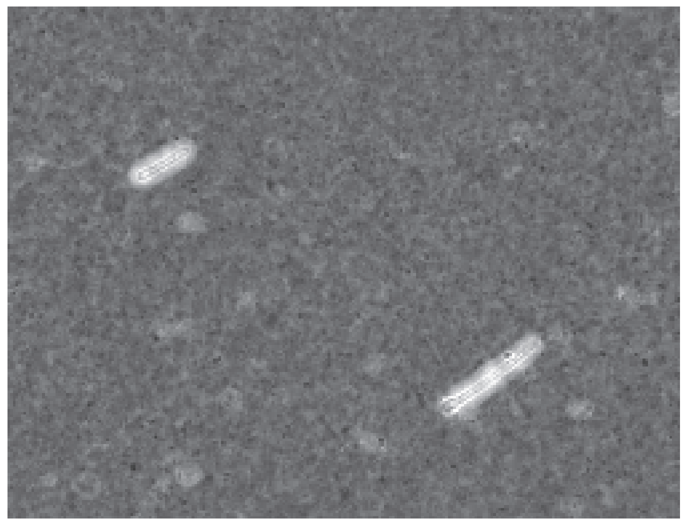
Microorganismo	Polímero	Subunidades químicas
Bacillus anthracis	Polipéptido	Ácido D-glutámico
Enterobacter aerogenes	Polisacáridos complejos	Glucosa, fucosa, ácido glucurónico
Haemophilus influenzae	Serogrupo b	Ribosa, ribitol, fosfato
Neisseria meningitides	Homopolímeros y heteropolímeros, p. ej. ,	
	Serogrupo A	Parcialmente O-acetilado *N-acetilmanosaminofosfato*
	Serogrupo B	Ácido *N-acetilmuramínico* (ácido siálico)
	Serogrupo C	Ácido siálico acetilado
	Serogrupo 135	Galactosa, ácido siálico
Pseudomonas aeruginosa	Alginato	Ácido D-manurónico, ácido L- glucurónico
Streptococcus pneumoniae	Polisacáridos complejos (varios tipos), p. ej. ,	
(neumococo)	Tipo II	Ramnosa, glucosa, ácido glucurónico
	Tipo III	Glucosa, ácido glucurónico
	Tipo VI	Galactosa, glucosa, ramnosa
	Tipo XIV	Galactosa, glucosa, *N-acetilglucosamina*
	Tipo XVIII	Ramnosa, glucosa
Streptococcus pyogenes (grupo A)	Ácido hialurónico	*N-acetilglucosamina,* ácido glucurónico
Streptococcus salivarius	Levano	Fructosa

Se conocen tres tipos de disposición: **monótrico** (flagelo polar único), **lofótrico** (múltiples flagelos polares) y **perítrico** (flagelos distribuidos sobre la totalidad de la célula). En la figura 2-22 se ilustran los tres tipos.

Un flagelo bacteriano está constituido por varios miles de moléculas de subunidades proteínicas denominadas **flagelina**. En unos cuantos microorganismos (p. ej., *caulobacter*) los flagelos están compuestos por dos tipos de flagelina, pero en la mayor parte de los casos sólo se encuentra un tipo. El flagelo se forma por la agregación de subunidades a una estructura de forma helicoidal. Si los flagelos se eliminan por agitación mecánica de una suspensión de bacterias, con rapidez se forman nuevos flagelos por la síntesis, agregación y extrusión de subunidades de flagelina; la motilidad se restablece en 3 a 6 min.

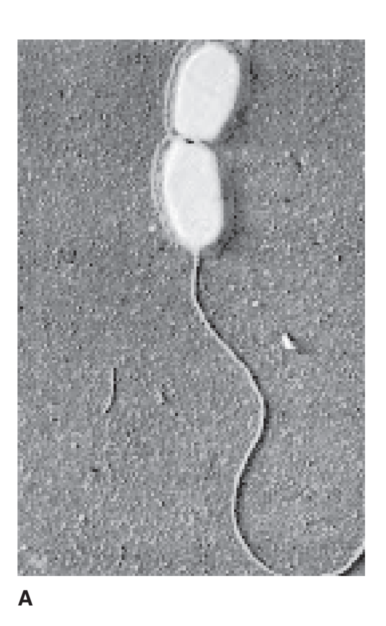


A



B

FIGURA 2-21 Cápsulas bacterianas. **A:** Tinción de la cápsula de *Bacillus anthracis* con la técnica de M'Faydean, cultivados a 35°C en sangre de caballo sin sibilina. **B:** Demostración de la presencia de cápsula en *B. anthracis* por tinción negativa con tinta china. Este método es útil para mejorar la visualización de bacterias encapsuladas en muestras clínicas como sangre, medios de hemocultivo o líquido cefalorraquídeo. (CDC, cortesía de Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory.)


A


B


C

FIGURA 2-22 Flagelos bacterianos. **A:** *Vibrio metchnikovii,* una bacteria monotrica (7 500×). (Reproducida con autorización de van Iterson W: *Biochim Biophys Acta* 1947;1:527). **B:** Micrografía electrónica de *Spirillum serpens,* que muestra flagelos lofótricos (9 000×). (Reproducida con autorización de van Iterson W: *Biochim Biophys Acta* 1947;1:527). **C:** Micrografía electrónica de *Proteus vulgaris,* que muestra flagelos perítricos (9 000×). Obsérvense los gránulos basales. (Reproducida con autorización de Houwink A, van Iterson W: Electron microscopical observation on bacterial cytology; a study of flagellation. *Biochim Biophys Acta* 1950;5:10.)

La flagelina de diferentes géneros bacterianos probablemente difiera de otra en cuanto a su estructura primaria. Son muy antigénicas (**antígeno H**) y algunas de las respuestas inmunitarias a la infección se dirigen contra estas proteínas.

Los flagelos se unen al cuerpo celular bacteriano por una estructura compleja formada por un gancho y un cuerpo basal. El gancho es una estructura curvada corta que parece actuar como articulación universal entre el motor en la estructura basal y el flagelo. Los cuerpos basales cuentan con un grupo de anillos, un par en las bacterias grampositivas y dos pares en las bacterias gramnegativas. En la figura 2-23 se muestra un diagrama interpretativo de la estructura de los gramnegativos; los anillos con las letras L y P se encuentran ausentes en las células grampositivas. La complejidad del flagelo bacteriano se hace evidente por estudios genéticos, los cuales muestran que más de 40 productos génicos participan en el ensamble y función de tales estructuras.

Los flagelos se elaboran en forma escalonada (figura 2-23). En primer lugar se ensambla el cuerpo basal y se inserta en la envoltura celular. A continuación se añade el gancho y por último el filamento se ensambla en forma progresiva por la adición de subunidades de flagelina a su punta de tamaño cada vez mayor. Las subunidades de flagelina son expulsadas a través de un conducto central hueco en el flagelo y cuando alcanzan la punta, se condensan con las moléculas predecesoras, lo que permite que el filamento se haga más largo.

B. Motilidad

Los flagelos bacterianos son rotores helicoidales semirrígidos que imparten movimiento de rotación a la célula. Esta rotación funciona por el flujo de protones dentro de la misma, siguiendo el gradiente de concentración producido por una bomba de protones primaria (véase revisión anterior); en ausencia de una fuente de energía metabólica, puede funcionar por la fuerza de desplazamiento de protones generada por ionóforos. Las bacterias que viven en entornos alcalinos (alcalófilas) utilizan la energía del gradiente del sodio (en lugar del gradiente de protones) para hacer funcionar el motor flagelar (figura 2-24).

Todos los componentes del motor flagelar se ubican en la envoltura celular. Los flagelos unidos a una envoltura celular aislada y sellada rotan normalmente cuando el medio contiene un sustrato apropiado para la respiración o cuando se establece un gradiente de protones por medios artificiales.

Cuando una bacteria perítrica se desplaza, los flagelos se asocian para formar un mechón posterior que favorece el desplazamiento de la célula en línea recta mediante la rotación en sentido contrario a las manecillas del reloj. En intervalos los flagelos invierten su dirección de rotación y sufren una disociación transitoria, ocasionando que la célula dé volteretas hasta que de nuevo se restablece el desplazamiento, con dirección aleatoria. Esta conducta hace posible la propiedad de la **quimiotaxia**; una célula que se desplaza de la fuente de un compuesto químico atrayente sufre una voltereta y se reorienta más a menudo de lo que ocurriría si se desplazara hacia la sustancia que causa la atracción, lo que da origen a un desplazamiento neto de la célula hacia el sitio de origen de la sustancia atrayente. La presencia de un atrayente químico (como un carbohidrato o aminoácido) es percibido por receptores específicos ubicados en la membrana celular (en muchos casos el mismo receptor también participa en el transporte de membrana de dicha molécula). Las células bacterianas son demasiado pequeñas para detectar la existencia de un gradiente químico espacial (es decir, un gradiente entre dos polos); los experimentos muestran que detecta gradientes temporales, esto es, concentraciones que disminuyen con el

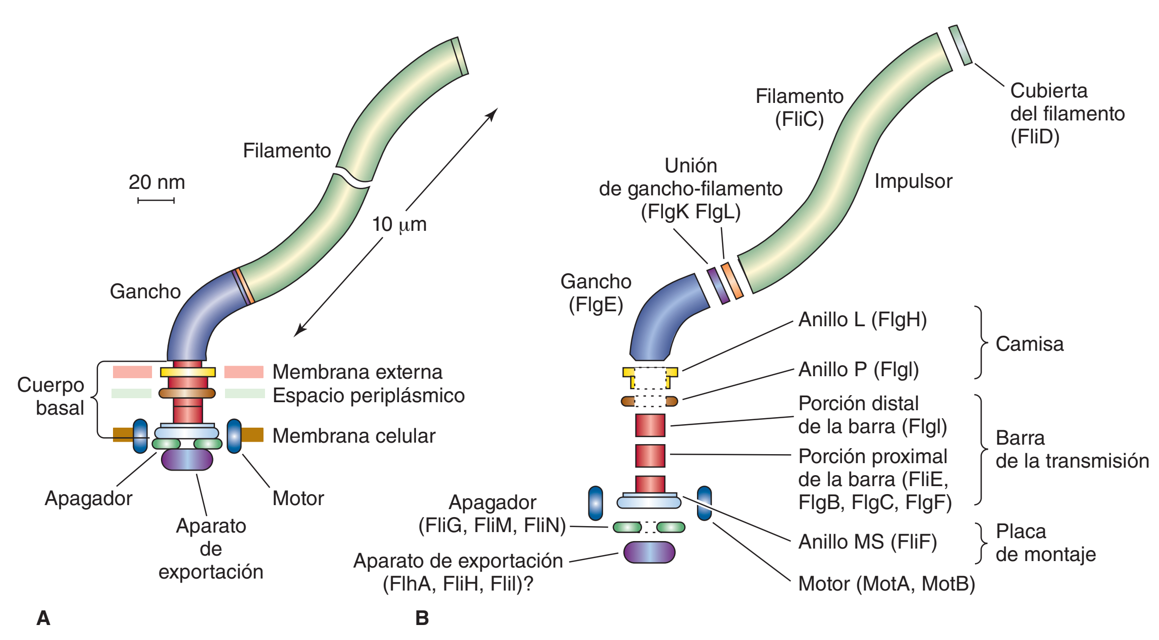


FIGURA 2-23 **A:** Estructura general del flagelo de una bacteria gramnegativa, como *Escherichia coli* o *Salmonella typhimurium*. El gancho filamentoso en el complejo corporal basal se ha aislado y se describe ampliamente. La ubicación del aparato de exportación no se muestra. **B:** Un diagrama del flagelo muestra la subestructura y proteínas a partir de las cuales se construye. La proteína FliF es responsable de la característica del anillo M, del anillo S y de la disposición en collar de las subestructuras que se muestran, que en conjunto se denominan anillo MS. Se desconoce la ubicación de FliE respecto al anillo MS y con la barra (y el orden de las proteínas FlgB, FlgC y FlgF en la barra proximal). (Tomada de Macnab RM: Genetics and biogenesis of bacterial flagella. *Annu Rev Genet* 1992;26:131. Reproducida con autorización de *Annual Review of Genetics,* Volume 26, © 1992 by Annual Reviews.)

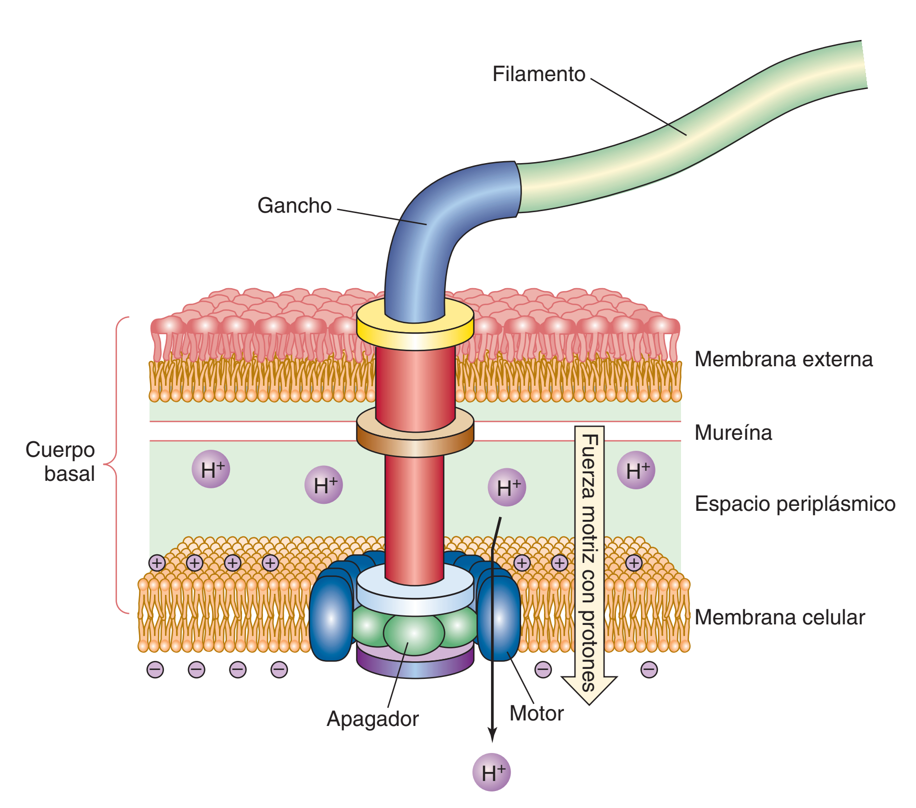


FIGURA 2-24 Componentes estructurales en el cuerpo basal del flagelo, lo que permite que la porción interna de la estructura, las barras y el cuerpo basal así como el complejo de gancho-filamento unidos presenten rotación. Los anillos externos permanecen estáticos en contacto con la membrana celular interna y externa y la pared celular (mureína), fijando el complejo del flagelo a la envoltura bacteriana. La rotación es estimulada por el flujo de protones a través del espacio periplásmico, fuera de la membrana celular, hacia el citoplasma en respuesta a un campo eléctrico y gradiente de protones a través de la membrana, que en conjunto constituyen la fuerza motriz de protones. Un apagador determina la dirección de la rotación, lo que a su vez determina si la bacteria se desplaza en sentido anterógrado (por rotación en sentido contrario a las manecillas del reloj) o presenta movimiento irregular (por rotación en el sentido de las manecillas del reloj de los flagelos). (Reproducida con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. *ASM News* 1997;63:13.)

paso del tiempo durante el cual la célula se aleja de la fuente de atracción y que se incrementa con el tiempo durante el cual la célula se desplaza hacia dicha fuente.

Algunos compuestos actúan como repelentes en lugar de atrayentes. Un mecanismo por el cual las células responden a las sustancias atrayentes y repelentes implica la metilación mediada por cGMP y la desmetilación de proteínas específicas en la membrana. Las sustancias atrayentes causan una inhibición transitoria de la desmetilación de estas proteínas, en tanto que los repelentes estimulan su desmetilación.

El mecanismo por el cual un cambio en la conducta celular ocurre en respuesta a un cambio en el entorno se denomina **transducción sensorial**; dicho fenómeno es causante de la quimiotaxia y de la **aerotaxis** (movimiento hacia la concentración óptima de oxígeno), **fototaxis** (movimiento de las bacterias fotosintéticas hacia las fuentes luminosas) y **taxis aceptora de electrones** (movimiento de las bacterias respiratorias hacia aceptores electrónicos alternativos, como nitrato y fumarato). En estas respuestas, al igual que la quimiotaxia, el desplazamiento neto depende de la regulación de la respuesta a las volteretas.

Pilosidades (fimbrias)

Muchas bacterias gramnegativas poseen apéndices superficiales rígidos denominados **pilosidades** ("pelos L") o **fimbrias** ("flecos L"). Son más cortos y más finos que los flagelos y al igual que éstos, se componen por subunidades proteínicas estructurales denominadas **pilinas**. Algunas pilosidades contienen un tipo único de pilina en tanto que otras tienen más de una. Las proteínas menores denominadas **adhesinas** se ubican en la punta de las pilosidades y participan en sus propiedades de unión. Pueden distinguirse dos clases: pilosidades ordinarias, que participan en la adhesión de bacterias sintéticas y patógenas con las células del hospedador y pilosidades sexuales, que participará en el mecanismo de unión de células donadas y receptoras para la conjugación bacteriana (capítulo 7). En la figura 2-25 se ilustran las pilosidades en las cuales la pilosidad sexual ha sido cubierta por una partícula fagocítica para la cual cuentan con receptores específicos.

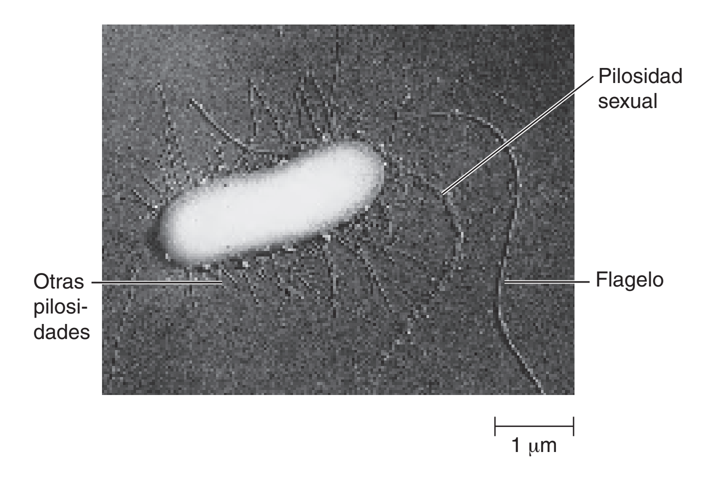


FIGURA 2-25 Pilosidades. Pilosidades en una célula de *Escherichia coli*. Las pilosidades cortas (fimbrias) gobiernan la adhesión; la pilosidad sexual participa en la transferencia de DNA. (Cortesía del doctor Charles Brinton, Jr.)

La motilidad a través de pilosidades es completamente diferente del movimiento flagelar. Las moléculas de pilina muestran disposición helicoidal para formar un cilindro recto que no rota y que carece de un cuerpo basal completo. Su punta se adhiere fuertemente a superficies distantes a la célula. Más tarde, las pilosidades sufren despolimerización desde el extremo interno y de esta forma sufren retracción al interior de la célula. El resultado es que la bacteria se mueve en la dirección en que se adhiere la punta. Este tipo de movimiento superficial se denomina **fasciculaciones** y se observa a menudo en bacterias con pilosidades. A diferencia de los flagelos, las pilosidades crecen desde el interior de la célula hacia el exterior.

La virulencia de ciertas bacterias patógenas depende de la producción de toxinas y también de "antígenos de colonización", los cuales son pilosidades ordinarias que proporcionan a las células propiedades de adhesión. En cepas de *E. coli* enteropatógena, las enterotoxinas y los antígenos de colonización (pilosidades) tienen determinación genética a través de plásmidos transmisibles, como se menciona en el capítulo 7.

En los estreptococos que son un grupo de cocos grampositivos, las fimbrias son el sitio principal para la ubicación del antígeno de superficie, la proteína M. El ácido lipoteicoico relacionado con estas fimbrias es causante de la adhesión de los estreptococos del grupo A a las células epiteliales del hospedador.

Las pilosidades de diferentes bacterias son distintas desde el punto de vista antigénico y desencadenan la formación de anticuerpos por el hospedador. Los anticuerpos contra las pilosidades de una especie bacteriana no evitan la unión de otra especie. Algunas bacterias (capítulo 21), como *N. gonorrhoeae* son capaces de producir pilosidades con diferentes tipos antigénicos (variación **antigénica**) y por lo tanto pueden adherirse a las células aun en presencia de anticuerpos contra su velocidad original. Al igual que las cápsulas, las pilosidades inhiben la capacidad fagocítica de los leucocitos.

Endosporas

Miembros de varios géneros bacterianos son capaces de formar endosporas (figura 2-26). Las dos más comunes son bacilos grampositivos: los anaerobios obligados del género *Bacillus* y los anaerobios obligados del género *Clostridium*. Otras bacterias que se sabe forman endosporas son *Thermoactinomyces, Sporolactobacillus, Sporosarcina, Sporotomaculum, Sporomusa* y *Sporohalobacter*. Dichos microorganismos sufren un ciclo de diferenciación en respuesta a condiciones ambientales: el proceso, denominado **esporulación**, es desencadenado por el casi agotamiento de varios nutrientes (carbono, nitrógeno o fósforo). Cada célula forma una espora interna única que es liberada cuando la célula madre sufre autólisis. La espora es una célula en reposo, muy resistente a la desecación, al calor y a los compuestos químicos; cuando se encuentra en condiciones nutricionales favorables y se activa (véase adelante) la espora **germina** para producir una célula vegetativa.

A. Esporulación

El proceso de esporulación inicia cuando las condiciones nutricionales se tornan poco favorables, hay casi agotamiento de las fuentes de nitrógeno o de carbono (o ambas), lo que constituye

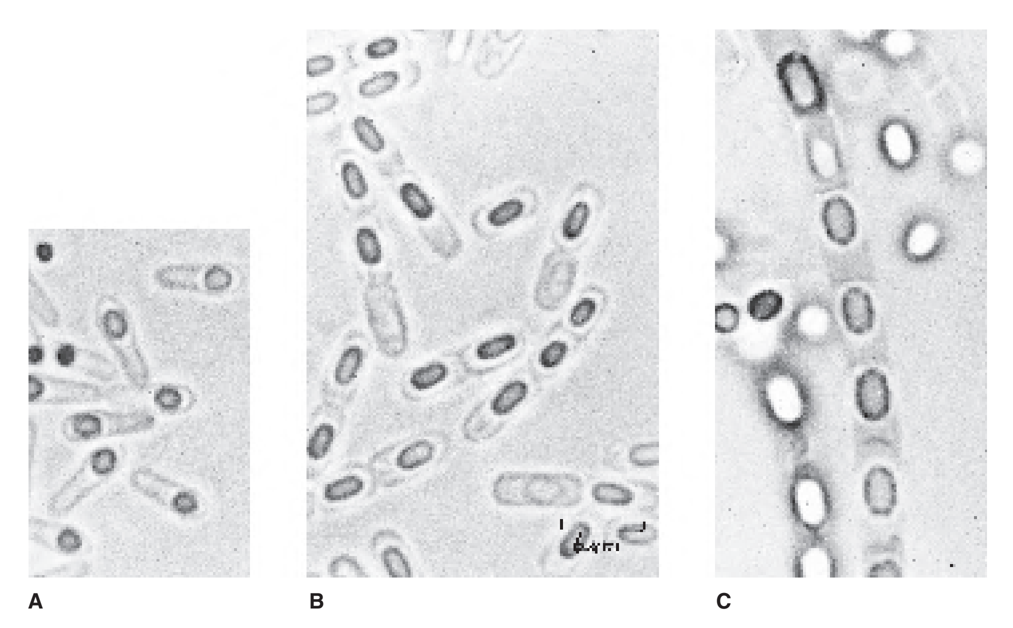


FIGURA 2-26 Células en esporulación del género bacilos. **A:** Bacilos no identificados provenientes del suelo. **B:** *Bacillus cereus*. **C:** *Bacillus megaterium*. (Reproducida con autorización de Robinow CF, Structure. En Gunsalus IC, Stanier RY [eds]. *The Bacteria: A Treatise on Structure and Function*. Vol 1. Academic Press, 1960.)

los factores más significativos. La esporulación ocurre masivamente en cultivos que han terminado su crecimiento exponencial como consecuencia del casi agotamiento de los nutrientes.

La esporulación implica la producción de muchas estructuras, enzimas y metabolitos nuevos junto con la desaparición de varios componentes de la célula vegetativa. Estos cambios representan un verdadero proceso de **diferenciación**; se activa una serie de genes cuyos productos determinan la formación y composición final de la espora. Tales cambios implican alteraciones en la especificidad transcripcional de la polimerasa de RNA, que depende de la asociación de la proteína central de polimerasa con una u otra proteína promotora específica denominada **factor sigma**. Durante el crecimiento vegetativo, predomina un factor sigma designado como σ^A. Más tarde, durante la esporulación se forman otros cinco factores sigma que causan la expresión de varios genes de la espora a diferentes tiempos en ubicaciones específicas.

La secuencia de eventos en la esporulación es sumamente compleja: la diferenciación de una célula vegetativa de *B. subtilis* en una endospora tarda casi 7 h en condiciones de laboratorio. Distintos eventos clínicos y morfológicos ocurren en etapas secuenciales del proceso. Se han identificado siete etapas diferentes.

Desde el punto de vista morfológico, la esporulación inicia con la formación de un filamento axil (figura 2-27). El proceso continúa con el plegamiento de la membrana de forma que se produce una doble membrana cuyas superficies corresponden a la superficie de síntesis de la pared celular de la envoltura celular. Los puntos de crecimiento se desplazan de manera progresiva hacia el polo de la célula de forma que pueda englobar la espora en formación.

Las dos membranas de la espora inician la síntesis activa de capas especiales que formarán la envoltura celular: la **pared de la espora** y la **corteza** que se encuentran fuera de las membranas en aposición. En el nuevo citoplasma aislado muchas enzimas de la célula vegetativa sufren degradación y son sustituidas por un grupo de constituyentes singulares para la espora.

B. Propiedades de las endosporas

1. Región central. La región central es el protoplasto de la espora. Contiene un núcleo completo (cromosomas), todos los componentes del aparato de síntesis de proteínas y el sistema productor de energía que depende de la glucólisis. Se carece de citocromos incluso en especies aerobias y por lo tanto las esporas dependen de una vía de transporte de electrones acortada que incluye flavoproteínas. Varias enzimas de células vegetativas se incrementan en cantidad (p. ej., alanina racemasa) y se forman varias enzimas singulares (p. ej., sintetasa de ácido dipicolínico). Las esporas no contienen nucleótidos de piridinas reducidos o ATP. La energía para la germinación se almacena en forma de 3-fosfoglicerato en lugar de almacenarse como ATP.

La resistencia al calor de las esporas se debe en parte a su estado de deshidratación y a la presencia de grandes cantidades de **dipicolinato cálcico** en la región central (5 a 15% del peso seco de la espora) que se forma a partir de un intermediario de la vía biosintética de glicina (figura 6-19). En alguna forma que aún no se comprende por completo, estas propiedades causan la estabilización de las enzimas de la espora, la mayor parte de las cuales muestran labilidad normal al calor cuando se aíslan en forma soluble.

2. Pared de la espora. La capa más interna que rodea la membrana interna de la espora se denomina pared de la espora. Contiene peptidoglucano normal y se convierte en la pared celular de la célula vegetativa en germinación.

3. Corteza. Es la capa más gruesa de la envoltura de la espora. Contiene un tipo inusual de peptidoglucano, con muchos menos enlaces cruzados de los que se encuentran en

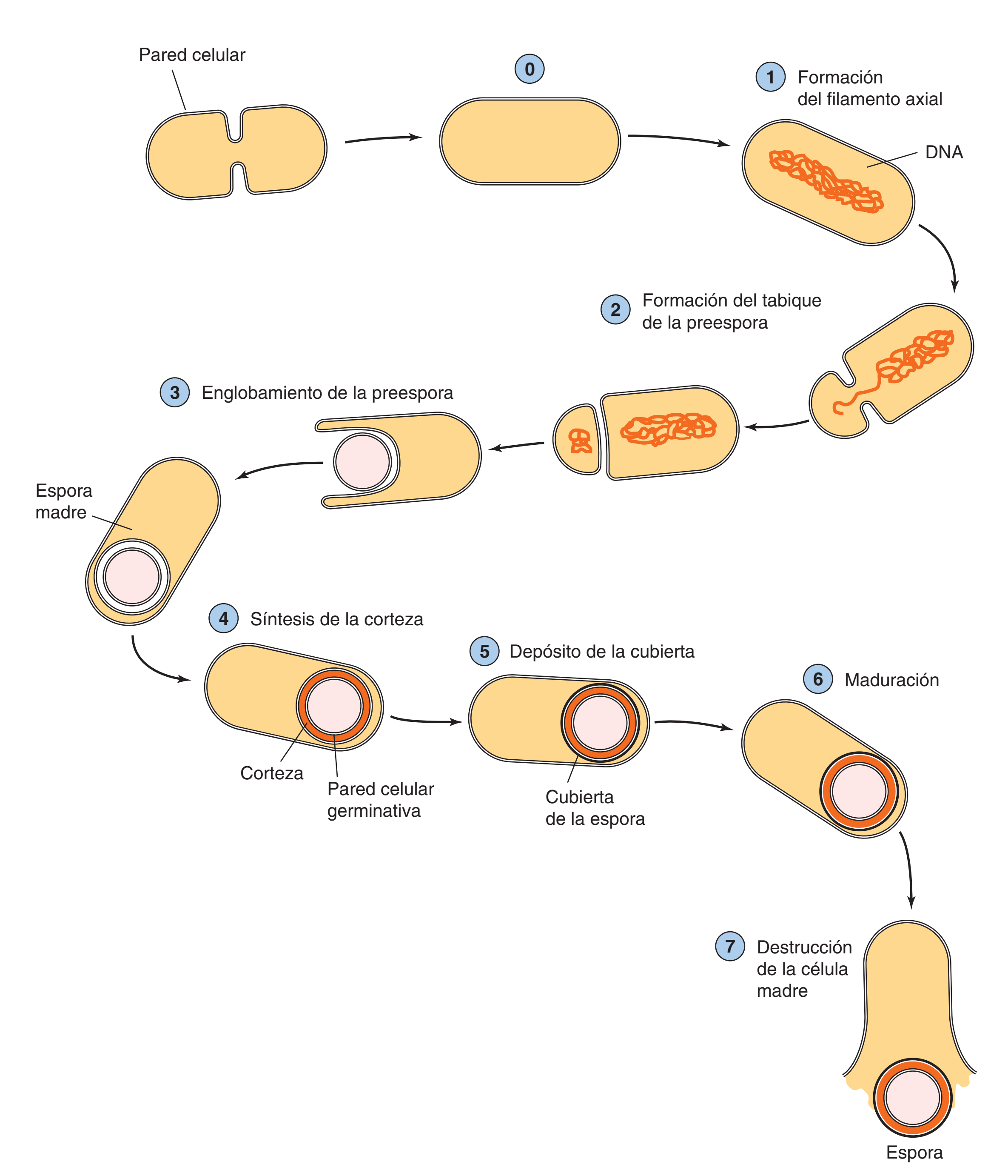


FIGURA 2-27 Etapas de la formación de endosporas. (Reproducida con autorización de Merrick MJ: Streptomyces. En: Parish JH [ed]. *Developmental Biology of Procaryotes*. Univ California Press, 1979.)

el peptidoglucano de la pared celular. El peptidoglucano de la corteza es extremadamente sensible a las lisozimas y su autólisis participa en la germinación de la espora.

4. Cubierta. La cubierta se compone de proteínas similares a la queratina que contienen muchos enlaces disulfuro intramoleculares. La impermeabilidad de esta capa confiere a las esporas su relativa resistencia a los agentes químicos antibacterianos.

5. Exosporio. El exosporio está compuesto por proteínas, lípidos y carbohidratos. Consiste de una capa basal paracristalina y una región externa con aspecto piloso. La función del exosporio es poco clara. Las esporas de algunos microorganismos del género *Bacillus* (p. ej., *B. anthracis* y *B. cereus*) poseen un exosporio, en tanto que microorganismos de otros géneros (p. ej., *B. atrophaeus*) poseen esporas que carecen de esta estructura.

C. Germinación

El proceso de germinación ocurre en tres etapas: activación, inicio y retoño.

1. Activación. La mayor parte de las endosporas no pueden germinar de inmediato después de su formación. Pueden germinar después de que han permanecido en reposo por varios

días o cuando se activan por primera vez en un medio rico en nutrientes por uno u otro agente que daña la cubierta de la espora. Entre los agentes que pueden activar a una espora en reposo se encuentran el calor, abrasión, acidez y compuestos que contienen grupos sulfhidrilo libres.

2. Inicio. Después de activada, una espora iniciará la germinación si las condiciones ambientales son favorables. En diferentes especies han evolucionado receptores que reconocen diferentes efectores como sistema de señalización en un entorno rico en nutrientes: así la etapa de inicio es desencadenada por L-alanina en una especie y por adenosina en otra. La unión del efector activa una autolisina que degrada con rapidez la corteza de peptidoglucano. Se capta agua, se libera el dipicolinato cálcico y diversos constituyentes de la espora sufren degradación por enzimas hidrolíticas.

3. Proliferación. La degradación de la corteza y de las capas externas da origen al surgimiento de una nueva célula vegetativa que consiste de protoplastos de espora con su pared circundante. Se continúa con un periodo de biosíntesis activa que concluye con la división celular, y se conoce como etapa de proliferación; para que se lleve a cabo ésta es necesario el suministro de todos los nutrientes esenciales para el crecimiento celular.

TINCIÓN

Los colorantes sufren combinación química con el protoplasma de la bacteria; si la célula no está muerta, el proceso de tinción la destruye; por lo tanto, tal proceso es drástico y puede producir artefactos.

Los colorantes utilizados a menudo son sales. Los **colorantes básicos** consisten de cationes teñidos con un anión incoloro (p. ej., cloruro$^-$ de azul de metileno$^+$); ocurre lo contrario con los **colorantes ácidos** (p. ej., eosinato$^-$ de sodio$^+$). Las células bacterianas son ricas en ácidos nucleicos y portan cargas negativas en los grupos fosfato. Ésta se combina con las cargas positivas de los colorantes básicos. Los colorantes ácidos no tiñen a las células bacterianas y por lo tanto pueden utilizarse para teñir el material de fondo a fin de proporcionar un contraste de color (véase la sección Tinción negativa).

Los colorantes básicos tiñen las células bacterianas de manera uniforme a menos que en primer lugar se destruya el RNA citoplásmico. Sin embargo, pueden utilizarse técnicas de tinción especial para diferenciar los flagelos, cápsulas, paredes celulares, membranas celulares, gránulos, nucleoides y esporas.

Tinción de Gram

Una característica taxonómica importante de las bacterias es su respuesta a la tinción de Gram. Las propiedades de tinción de Gram parecen ser fundamentales, porque la reacción de Gram se correlaciona con muchas otras propiedades morfológicas en formas con relación filogenética (capítulo 3). Un microorganismo que en potencia es positivo para la tinción de Gram puede parecerlo sólo bajo condiciones ambientales particulares y en un cultivo joven.

Los procedimientos de tinción de Gram (capítulo 47) inician con la aplicación de un colorante básico, violeta de genciana. A continuación se aplica una solución de yodo; todas las bacterias se tiñen de color azul en este punto del procedimiento. Luego la célula se trata con alcohol. Las células grampositivas que conservan el complejo de violeta de genciana-yodo adquieren un color azul y las células gramnegativas se decoloran por completo con la adición de alcohol. Como último paso se aplica otro colorante (como rojo de safranina) de forma que las células gramnegativas decoloradas adquieran un color contrastante; las células grampositivas adquieren un color violáceo (cuadro 2-1).

La base de la reacción diferencial a la tinción de Gram es la estructura de la pared celular, como se comentó antes en este capítulo.

Tinción acidorresistente

Las bacterias acidorresistentes son aquellas que conservan la carbolfucsina (tiroxina básica disuelta en una mezcla de agua-alcohol-fenol) incluso cuando se decolora con ácido clorhídrico en alcohol. Un frotis de células sobre una laminilla se cubre con carbolfucsina y se calienta en baño María. A continuación se lleva a cabo la decoloración con la mezcla de ácido-alcohol y por último se aplica una tinción de contraste (azul o verde) (capítulo 47). Las bacterias acidorresistentes (micobacterias y algunos actinomicetos relacionados) adquieren un color rojizo en tanto que otras células adquieren el color del segundo colorante.

Tinción negativa

Este procedimiento consiste en la atención del entorno con un colorante ácido, dejando a las células incoloras. El colorante negro de nigrosina (tinta china) se utiliza a menudo. Dicho método se emplea para aquellas células o estructuras difíciles de teñir en forma directa (figura 2-21B).

Tinción de los flagelos

Los flagelos son demasiado delgados (12 a 30 nm de diámetro) para que sean visibles en el microscopio de luz. Sin embargo, su presencia y distribución pueden demostrarse al tratar las células con una suspensión coloidal inestable de sales de ácido tánico, lo que causa la precipitación intensa sobre las paredes celulares y flagelos. De esta manera, el diámetro aparente de éstos se incrementa a un tamaño tal que las tinciones subsiguientes con fucsina básica hacen visibles a los flagelos en la microscopia de luz. En la figura 2-28 se muestran células teñidas con este método.

En las bacterias perítricas los flagelos forman haces durante el movimiento y tales haces pueden tener un grosor tal que sea posible observarlos en células vivas en la microscopia de campo oscuro o de contraste de fases.

Tinción de la cápsula

La presencia de la cápsula por lo común se demuestra por procedimientos de tinción negativa o modificaciones de tales procedimientos (figura 2-21). Uno de estos métodos de "tinción de la cápsula" (método de Welch) implica el tratamiento con solución de violeta de genciana caliente seguido de un lavado con solución de sulfato de cobre. Este último se utiliza para

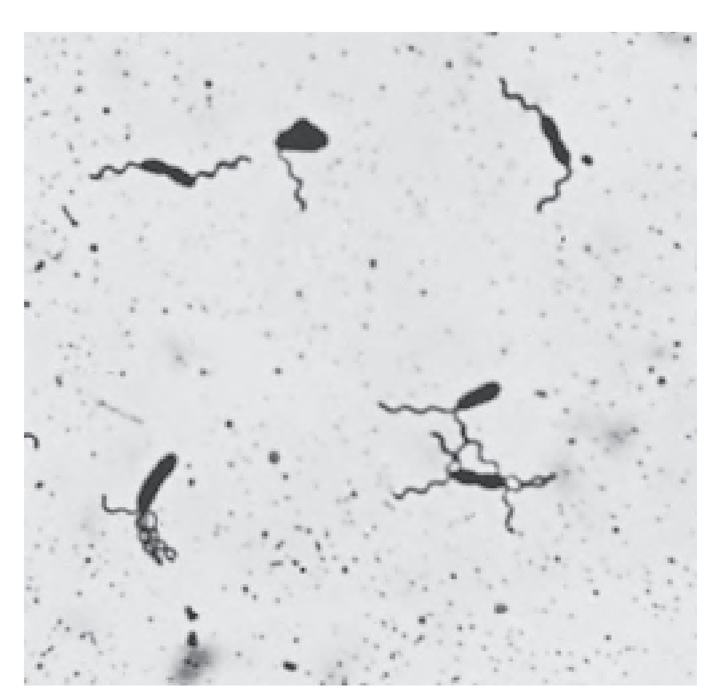


FIGURA 2-28 Tinción de los flagelos de bacterias del género *Pseudomonas*. (Reproducida con autorización de Leifson E: Staining, shape and arrangement of bacterial flagella. *J Bacteriol* 1951;62:377.)

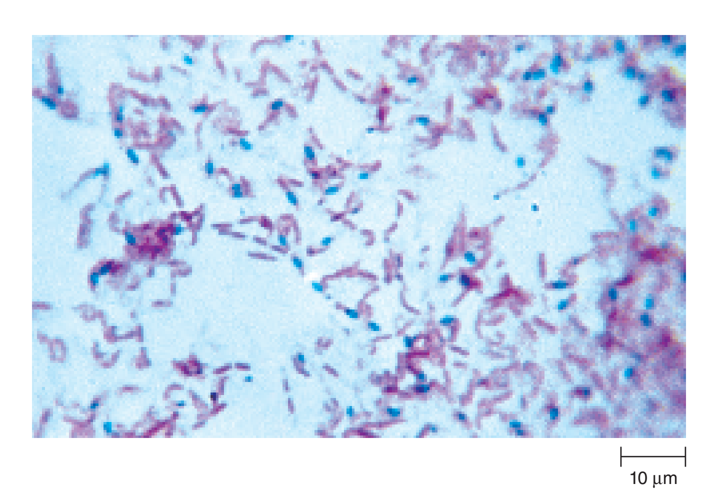


FIGURA 2-29 Tinción de una endospora. Las endosporas retienen el color verde primario, verde malaquita. La contratinción con safranina tiñe de rojo las demás células. (© Jack M. Bostrack/Visuals Unlimited).

eliminar el exceso de colorante porque las técnicas convencionales de lavado con agua causarían la disolución de la cápsula. Las sales de cobre también proporcionan color al fondo, con el resultado de que la célula y el fondo adquieren un color azul oscuro y la cápsula tiene un color azul mucho más pálido.

Tinción de nucleótidos

Los nucleótidos se pueden teñir con la tinción de Feulgen, un método específico para el DNA.

Tinción de esporas

Las esporas se observan de la manera más simple como cuerpos refringentes intracelulares (figura 2-26) en suspensiones celulares no teñidas o como áreas incoloras en células teñidas por métodos convencionales. La pared de la espora es relativamente impermeable, pero puede lograrse que el colorante penetre la espora mediante el calentamiento de la preparación. La misma impermeabilidad que sirve para evitar la decoloración de la espora después de un tratamiento con alcohol es suficiente para decolorar células vegetales. Más tarde puede aplicarse un segundo colorante. Las esporas a menudo se tiñen con verde de malaquita o carbolfucsina (figura 2-29).

CAMBIOS MORFOLÓGICOS DURANTE LA PROLIFERACIÓN

División celular

La mayor parte de las bacterias se dividen por **fisión binaria** en dos células hijas iguales. En un medio de cultivo de bacilos, como *E. coli*, las células sufren elongación y más tarde forman una partición que finalmente se separa en dos células hijas. La partición se conoce como **tabique** y es consecuencia del crecimiento hacia el interior de la membrana citoplásmica y la pared celular a partir de direcciones opuestas hasta que se separan dos células hijas. Los cromosomas se duplican en número antes de la división y se distribuyen en cantidades iguales a las dos células hijas.

Las bacterias carecen de huso mitótico pero el tabique se forma de manera tal que separa los cromosomas de las dos células hijas, que previamente se formaron por replicación cromosómica. Esto se logra mediante la unión de los cromosomas a la membrana celular. Con base en un modelo, la finalización de un ciclo de replicación de DNA desencadena la síntesis activa de la membrana en los sitios de unión de los dos cromosomas hijos. Los cromosomas se separan por el crecimiento del tabique hacia el interior, procedimiento en el cual cada célula hija permanece con una copia.

Agrupamiento celular

Si las células permanecen transitoriamente unidas durante la división, se originan ciertas agrupaciones características. Dependiendo del plano de división y el número de divisiones a través del cual las células permanecen unidas, pueden presentarse las siguientes formas durante la replicación de cocos: cadenas (estreptococos), pares (diplococos), haces cúbicos (sarcinas) o placas planas. Los bacilos pueden formar pares o cadenas.

Después de la fisión de algunas bacterias, ocurren movimientos característicos luego de la división. Por ejemplo, un "movimiento de latigazo" puede colocar las células en posiciones paralelas; las divisiones repetidas y los movimientos de latigazo que ocurren en forma repetida dan origen a una disposición en "palizada" que es característica de los bacilos diftéricos.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La microscopia tiene una participación muy importante en nuestros conocimientos de la estructura celular.
- Las células eucariotas se caracterizan por un núcleo rodeado por una membrana, un retículo endoplásmico,

ribosomas 80S y plástidos (mitocondrias y cloroplastos). La membrana plasmática se caracteriza por la presencia de esteroles (colesterol). Las células procariotas carecen de un núcleo verdadero y son haploides. Su citoplasma contiene ribosomas 70S y no poseen mitocondrias ni cloroplastos.

- Las funciones principales de la membrana celular de las células procariotas son: 1) la permeabilidad selectiva y el transporte de solutos; 2) el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa, en las especies aeróbias; 3) la excreción de enzimas hidrolíticas y otras proteínas; 4) tener las enzimas y moléculas acarreadoras que funcionan en la biosíntesis de DNA, polímeros de la pared celular y lípidos de la membrana; y 5) tener a los receptores y proteínas de la quimiotaxia y otros sistemas de transducción sensorial.
- La mayor parte de las bacterias se clasifica como grampositiva o gramnegativa, según su respuesta a la tinción de Gram. Las diferencias entre ambos grupos se reflejan en diferencias fundamentales de sus cubiertas celulares.
- La pared celular de los grampositivos consta de una membrana plasmática y una capa gruesa de peptidoglucano; la pared celular de los gramnegativos consta de una membrana plasmática, una capa delgada de peptidoglucano y una membrana externa que contiene lipopolisacáridos (endotoxina). El espacio entre la membrana plasmática y la membrana externa se denomina espacio periplásmico
- Muchas bacterias sintetizan grandes cantidades de polímeros extracelulares. Cuando este polímero forma una capa condensada y bien definida que rodea a la célula y excluye a las partículas como la tinta china, se le denomina cápsula. Las cápsulas son factores importantes de virulencia y protegen a la célula de la fagocitosis.
- Las estructuras de la superficie celular como pilosidades y flagelos, son importantes para su adhesión y motilidad, respectivamente.
- La formación de endosporas es una característica de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* y se desencadena por la desaparición de nutrientes en el ambiente. Las endosporas (esporas) son células en reposo, altamente resistentes a la desecación, el calor y las sustancias químicas; cuando regresan a un ambiente nutritivo favorable y se activan, la espora germina para producir una célula vegetativa.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 22 años de edad acude a consulta con una úlcera indolora de 1 cm de diámetro en la base del pene. Presenta linfadenopatía inguinal. El paciente informa que ha pagado por relaciones sexuales y drogas y tiene varias parejas sexuales. Una prueba de RPR fue positiva y se sospecha sífilis; sin embargo, la tinción de Gram de un frotis obtenido con hisopo de la úlcera muestra ausencia de bacterias. El *Treponema pallidum* es el agente causal de la sífilis pero no puede visualizarse en la microscopia de luz porque
   (A) Es transparente
   (B) No puede teñirse con los colorantes ordinarios
   (C) Tiene un diámetro < 0.2 μm
   (D) La longitud de onda de la luz blanca es demasiado grande
   (E) El movimiento rápido del microorganismo evita su visualización

2. El cloranfenicol es un antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas bacterianas. ¿Qué organelos de células eucariotas también se afectan?
   (A) Mitocondria
   (B) Aparato de Golgi
   (C) Microtúbulos
   (D) Retículo endoplásmico
   (E) Membrana nuclear

3. ¿Cuál de las siguientes estructuras no es parte de la envoltura de la célula bacteriana?
   (A) Peptidoglucano
   (B) Lipopolisacárido
   (C) Cápsula
   (D) Vacuola de gas
   (E) Capa S

4. Un grupo de adolescentes presentó náusea, vómito, dolor abdominal cólico intenso y diarrea después de comer hamburguesas mal cocidas en un restaurante local. Dos de los adolescentes fueron hospitalizados con síndrome hemolítico-urémico. Se aisló *Escherichia coli* O157:H7 de las heces de un paciente y también en una muestra de las hamburguesas mal cocidas. ¿A qué estructura bacteriana se hace referencia con el término H7?
   (A) Lipopolisacáridos
   (B) Cápsula
   (C) Flagelo
   (D) Fimbria
   (E) Capa S

5. ¿Cuál de los siguientes componentes está presente en bacterias grampositivas, pero no en gramnegativas?
   (A) Peptidoglucano
   (B) Lípido A
   (C) Cápsula
   (D) Flagelos
   (E) Pilosidades

6. Los estreptococos del grupo A son la causa bacteriana más común de faringitis en niños de edad escolar de cinco a 15 años. El componente celular más importante que participa en la adhesión de esta bacteria a la fibronectina y que cubre la superficie epitelial de la nasofaringe es
   (A) Cápsula
   (B) Ácido lipoteicoico
   (C) Flagelos
   (D) Lipoproteínas
   (E) Antígeno O

7. En el otoño de 2001, varias cartas que contenían esporas de *Bacillus anthracis* fueron enviadas por correo a personas de los medios de comunicación y oficinas del senado estadounidense. Esto ocasionó 22 casos de carbunco con cinco defunciones. La resistencia al calor de esporas bacterianas, como las de *Bacillus anthracis* se deben en parte a su estado de deshidratación y en parte a la presencia de grandes cantidades de
   (A) Ácido diaminopimélico
   (B) Ácido D-glutámico
   (C) Dipicolinato de calcio
   (D) Proteínas que contienen grupos sulfhidrilo
   (E) Lípido A

8. ¿Cuál de los siguientes términos NO describen al cromosoma bacteriano?
   (A) Haploide
   (B) Diploide
   (C) Circular

(D) Nucleoide
(E) Positivo con la tinción de Feulgen

9. El lisosoma parte el enlace β1→4 entre:
   (A) D-alanina y el puente de pentaglicina
   (B) Ácido *N*-acetilmurámico y D-alanina
   (C) Lípido A y KDO
   (D) Ácido *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina
   (E) D-Alanina y D-alanina
10. ¿De cuáles de los componentes siguientes carecen las especies de *Mycoplasma*?
   (A) Ribosomas
   (B) Membrana plasmática
   (C) Tanto DNA como RNA
   (D) Lípidos
   (E) Peptigloglicano

Respuestas

1. C	5. B	9. D
2. A	6. B	10. E
3. D	7. C	
4. C	8. B	

BIBLIOGRAFÍA

Balows A, *et al.* (editors): *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*, 2a. ed, 4 vols. Springer, 1992.

Barreteau H, Kovac A, Boniface A, Sova M, Gobec S, Blanot D: Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:168.

Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes*. Springer, 2005.

Bermudes D, Hinkle G, Margulis L: Do prokaryotes contain microtubules? *Microbiol Rev* 1994;58:387.

Blair DF: How bacteria sense and swim. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:489.

Burrows LL: Twitching motility: Type IV pili in action. *Annu Rev Microbiol* 2012;66:492.

Craig L, Pique ME, Tainer JA: Type IV pilus structure and bacterial pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:363.

Dautin N, Bernstein HD: Protein secretion in gram-negative bacteria via the autotransporter pathway. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:89.

Economou A, Christie PJ, Fernandez RC, Palmer T, Plano GV, Pugsley AP: Secretion by the numbers: protein traffic in prokaryotes. *Mol Microbiol* 2006;62:308.

Hinnebusch J, Tilly K: Linear plasmids and chromosomes in bacteria. *Mol Microbiol* 1993;10:917.

Henriques AO, Moran CP Jr: Structure, assembly, and function of the spore surface layers. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:555.

Hueck CJ: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:379.

Leiman PG, *et al.*: Type VI secretion apparatus and phage tail-associated protein complexes share a common evolutionary origin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:4154.

Liu J, Barry CE III, Besra GS, Nikaido H: Mycolic acid structure determines the fluidity of the mycobacterial cell wall. *J Biol Chem* 1996;271:29545.

Messner P, *et al:* Biochemistry of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:25-46.

Naroninga N: Morphogenesis of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:110.

Nikaido H: Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:593.

Rachel R, *et al.*: Fine structure of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:13.

Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P: The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:234.

Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. American Society for Microbiology, 2006.

Scheffers DJ, Pinho MG: Bacterial cell wall synthesis: New insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69:585.

Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101. [PMID: 9615433]

Scott JR, Barnett TC: Surface proteins of gram-positive bacteria and how they get there. *Annu Rev Microbiol* 2006;60:397.

Silverman JM, Brunet YR, Cascales E, Mougous JD: Structure and regulation of the Type VI secretion system. *Annu Rev Microbiol* 2012;66:453.

Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R: *Bacillus Subtilis and Its Closest Relatives*. American Society for Microbiology, 2002.

Vaara M: Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev* 1992;56:395.

Vollmer W, Blanot D, de Pedro MA: Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:149.

Walsby AE: Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94.

Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:513.

CAPÍTULO

3

Clasificación de las bacterias

TAXONOMÍA: EL VOCABULARIO DE LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA

Con sólo examinar la tabla de contenido de este libro, se aprecia la diversidad de patógenos que causan enfermedades infecciosas. Se calcula que en la actualidad es posible identificar menos de 10% de los microorganismos patógenos que provocan enfermedades por la dificultad de cultivarlos o analizarlos con sondas moleculares. No obstante, incluso la diversidad de estos microorganismos patógenos identificables es tal que es importante conocer las diferencias sutiles entre cada uno de ellos. La razón por la que es importante conocer estas diferencias mínimas es que cada microorganismo infeccioso se ha adaptado de manera específica a un modo particular de transmisión, un mecanismo para infectar al hospedador humano (colonización) y un mecanismo para causar enfermedad (patología). Por lo tanto, es indispensable contar con un vocabulario que permita comunicar las características particulares de los microorganismos infecciosos a los estudiantes, microbiólogos y al personal dedicado a la salud con la finalidad de evitar el caos que sobrevendría sin las limitaciones de organización propias de la **taxonomía** bacteriana (del griego *taxon* = organización; esto es, la clasificación de los microorganismos en un sistema ordenado que indica una relación natural).

La **identificación**, **clasificación** y **nomenclatura** son tres áreas independientes, pero interrelacionadas, de la taxonomía bacteriana. Cada área es crucial para el objetivo final de estudiar con exactitud las enfermedades infecciosas y comunicarlas con precisión a otras personas en este campo.

La **identificación** es el uso práctico de un esquema de clasificación para 1) aislar y diferenciar microorganismos específicos entre una mezcla de flora microbiana compleja; 2) verificar la autenticidad o propiedades especiales de un cultivo en un entorno clínico y 3) aislar al microorganismo causal de una enfermedad. Esto último puede conducir a la selección de tratamientos farmacológicos específicos para la erradicación, a la creación de vacunas que mitiguen su patología o a la aplicación de medidas de salud pública (p. ej., lavado de manos) para prevenir que continúe la transmisión.

Los esquemas de identificación no son esquemas de clasificación, aunque haya algunas similitudes superficiales. Por ejemplo, las publicaciones populares han informado que *Escherichia coli* causa síndrome hemolítico-urémico (HUS, hemolytic-uremic syndrome) en lactantes. Hay cientos de cepas diferentes que se clasifican como *E. coli,* pero sólo unas cuantas se asocian a HUS. Estas cepas pueden "identificarse" de muchas otras cepas de *E. coli* por su reactividad a anticuerpos con los antígenos O, H y K, como se describe en el capítulo 2 (p. ej., *E. coli* O157:H7). Sin embargo, se las clasifica de una manera más amplia como integrantes de la familia de las Enterobacteriaceae.

En el contexto microbiológico, la **clasificación** es la categorización de microorganismos en grupos taxonómicos. Se necesitan técnicas experimentales y de observación para la clasificación taxonómica. Esto se debe a que, desde siempre, las propiedades bioquímicas, fisiológicas, genéticas y morfológicas son indispensables para establecer una categoría taxonómica. Esta área de la microbiología es necesariamente dinámica a medida que los recursos tecnológicos continúen evolucionando (p. ej., nuevos métodos de microscopía, análisis bioquímicos y biología de ácidos nucleicos con el uso de computadoras).

El término **nomenclatura** se refiere a la denominación de un microorganismo por un grupo establecido de científicos y médicos. Sin duda, éste es el componente más importante de la taxonomía porque permite a los médicos comunicarse entre sí. De la misma manera como el vocabulario social evoluciona, también lo hace el vocabulario de la microbiología médica. Cualquier profesional relacionado con enfermedades infecciosas debe conocer la evolución de la taxonomía de los microorganismos infecciosos.

En definitiva, las categorías taxonómicas forman la base de la organización de las bacterias. La taxonomía linneana es el sistema que mejor conocen los biólogos. Ésta utiliza las categorías taxonómicas formales como reino, tipo, clase, orden, familia, género y especie. Las categorías inferiores son aprobadas por un consenso de expertos en la comunidad científica. De estas categorías, la familia, género y especie son las más utilizadas (cuadro 3-1).

CRITERIOS PARA CLASIFICAR LAS BACTERIAS

Crecimiento en medios de cultivo

Los criterios adecuados para fines de clasificación bacteriana incluyen muchas de las propiedades que se describieron en el capítulo anterior. Uno de ellos es la proliferación en diferentes tipos de medios de cultivo bacteriológico. El cultivo general de la mayor parte de las bacterias exige un medio con abundantes nutrientes. Estos medios por lo general contienen agar, una fuente de carbono, y un hidrolizado ácido o una fuente de material biológico sometida a degradación enzimática (p. ej., caseína). Debido a que la composición de estos últimos es indefinida, se denominan **medios complejos**.

apter 03_Carroll_4R.indd 43 14/04/16

CUADRO 3-1 Categorías taxonómicas

Categoría formal	Ejemplo
Reino	Procariotas
División	Gracilicutes
Clase	Escotobacteria
Orden	Eubacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	*Escherichia*
Especie	*coli*
Subtipo	*Escherichia coli* O157:H7

Las muestras clínicas provenientes de sitios que en condiciones normales no son estériles (p. ej., faringe o colon) contienen más de un tipo de microorganismo, incluidos patógenos potenciales y microbiota residente. Los medios de cultivo pueden clasificarse en **no selectivos** o **selectivos**; estos últimos permiten distinguir entre las diversas bacterias presentes en una muestra clínica que contiene numerosos microorganismos diferentes.

A. Medios no selectivos

El agar sangre y el agar chocolate constituyen ejemplos de medios de cultivo complejos no selectivos que facilitan el crecimiento de muy diversas bacterias. El propósito de estos medios es cultivar tantas especies como sea posible y generar, de esta manera, numerosos tipos de colonias bacterianas.

B. Medios selectivos

En vista de la diversidad de microorganismos que habitan en algunos sitios (p. ej., la piel, el aparato respiratorio, el aparato digestivo, la vagina), se utilizan medios selectivos para eliminar (o reducir) el gran número de bacterias irrelevantes en estas muestras. El fundamento de los medios selectivos es la incorporación de una sustancia que inhibe de manera selectiva el crecimiento de las bacterias irrelevantes. Algunos ejemplos de estas sustancias son:

- Azida de sodio: selecciona bacterias grampositivas entre las gramnegativas
- Sales biliares (p. ej., desoxicolato sódico): selecciona bacterias intestinales gramnegativas e inhibe las bacterias gramnegativas de la mucosa y la mayor parte de las grampositivas
- Colistina y ácido nalidíxico: inhiben el crecimiento de numerosas bacterias gramnegativas

Ejemplos de medios selectivos son el agar MacConkey (que contiene bilis), que selecciona Enterobacteriaceae y el agar sangre CNA (que contiene colistina y ácido nalidíxico) que selecciona los estafilococos y estreptococos.

C. Medios diferenciales

Al cultivarse, algunas bacterias producen pigmentos característicos y otras se distinguen con base en la producción de enzimas extracelulares; la actividad de estas enzimas puede identificarse como zonas claras alrededor de las colonias cultivadas en presencia de sustratos insolubles (p. ej., zonas de **hemólisis** en un agar que contiene eritrocitos).

Muchos de los miembros de Enterobacteriaceae se distinguen por su potencial para metabolizar lactosa. Por ejemplo, las cepas patógenas de *Salmonella* y *Shigella* no fermentan lactosa y en el agar MacConkey forman colonias transparentes, en tanto que las integrantes de las Enterobacteriaceae que fermentan lactosa (p. ej., *E. coli)* forman colonias rojas o rosas.

El número de medios diferenciales utilizados actualmente en los laboratorios clínicos rebasa el alcance de este capítulo.

Microscopia

Por tradición, la tinción de Gram, aunada a la visualización con microscopio de luz, es uno de los métodos que más información ofrece para clasificar las eubacterias. Esta técnica de tinción divide de manera general a las bacterias con base en las diferencias fundamentales en la estructura de sus paredes celulares (capítulo 2). Habitualmente, esto representa el primer paso en la identificación de bacterias (p. ej., ¿son grampositivas o gramnegativas?) que crecen en cultivo o incluso directamente de las muestras clínicas (p. ej., muestras de orina).

Pruebas bioquímicas

Algunos exámenes como la **prueba de la oxidasa**, en la que se utiliza un aceptor artificial de electrones, sirven para diferenciar a los microorganismos con base en la presencia o ausencia de una enzima de la cadena respiratoria, el citocromo C, cuya ausencia permite distinguir entre las Enterobacteriaceae y otros bacilos gramnegativos. Asimismo, la actividad de la **catalasa** sirve, por ejemplo, para diferenciar entre los cocos grampositivos; las especies de estafilococos son catalasas positivas, en tanto que las especies de estreptococos son catalasas negativas. Cuando se demuestra que un microorganismo es catalasa positivo (*Staphylococcus* spp.), la especie se subdivide por medio de una prueba de coagulasa en *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) o *Staphylococcus epidermidis* (coagulasa negativa) como se demuestra en la figura 3-1.

En conclusión, hay varios ejemplos de pruebas bioquímicas que permiten establecer la presencia de funciones metabólicas características y que sirven para agrupar las bacterias en

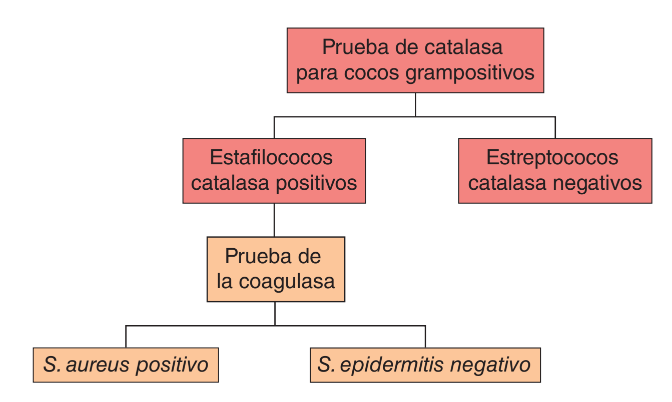


FIGURA 3-1 Algoritmo para diferenciar los cocos grampositivos.

CUADRO 3-2 Pruebas bioquímicas microbacterianas utilizadas con frecuencia para distinguir entre las bacterias

1. **Desdoblamiento de carbohidratos**. La posibilidad de hacer productos metabólicos ácidos por vía de la fermentación o de la oxidación de una variedad de carbohidratos (p. ej., glucosa, sacarosa y lactosa) se ha aplicado a la identificación de la mayor parte de los grupos de bacterias (p. ej., *Escherichia* fermentan lactosa, en tanto que la *Salmonella spp*. no lo hace). Tales pruebas son generales e imperfectas como mecanismo de definición, pero han demostrado ser útiles con fines taxonómicos. En fechas más recientes, la identificación por cromatografía de gases de ácidos grasos de cadena corta específicos producidos por fermentación de la glucosa ha demostrado ser de utilidad en la clasificación de muchas bacterias anaerobias.
2. **Producción de catalasa**. La enzima catalasa cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno. Cuando una colonia se coloca en peróxido de hidrógeno, puede observarse la liberación de oxígeno en forma de burbujas. La prueba es particularmente útil para distinguir entre estafilococos (positiva) y estreptococos (negativa), pero también tiene aplicaciones taxonómicas para las bacterias gramnegativas.
3. **Utilización de citrato.** Un medio de agar que contiene citrato de sodio como única fuente de carbono puede servir para determinar la capacidad de utilizar el citrato. Bacterias como la *Klebsiella pneumoniae* que crecen en este medio se denominan **citrato positivas**.
4. **Coagulasa**. La enzima coagulasa actúa con el factor plasmático para convertir el fibrinógeno en un coágulo de fibrina. Sirve para diferenciar el *Staphylococcus aureus* de otros estafilococos menos patógenos.
5. **Descarboxilasas y desaminasas**. La descarboxilación o desaminación de los aminoácidos lisina, ornitina y arginina se detecta por el efecto de los productos amino sobre el pH de la mezcla de reacción o por la formación de productos coloreados. Las pruebas se utilizan principalmente con bacilos gramnegativos.
6. **Sulfuro de hidrógeno**. La capacidad de algunas bacterias de producir H_2S a partir de aminoácidos o de otros compuestos que contienen azufre es útil en la clasificación taxonómica. El color negruzco de las sales de azufre formadas con metales pesados como el hierro es el medio habitual de detección. La prueba permite diferenciar entre los bacilos gramnegativos.
7. **Indol**. La reacción al indol prueba la capacidad del microorganismo de producir indol, un benzopirrol derivado del triptófano. El indol se detecta por la formación de un color rojizo después de la adición de un reactivo de benzaldehído. La prueba puede realizarse en segundos si se utilizan colonias. *Proteus vulgaris* es positivo para indol.
8. **Reducción de nitratos.** Las bacterias pueden ocasionar reducción de nitratos por varios mecanismos. Esta capacidad se demuestra con la detección de nitratos o con la formación de gas nitrógeno en el proceso. Esta prueba se incluye en el examen general de orina habitual para detectar infecciones de vías urinarias.
9. **Desdoblamiento de O-nitrofenil-β-D-galactosidasa (ONPG)**. Esta prueba se relaciona con la fermentación de lactosa. Los microorganismos que tienen la β-galactosidasa necesaria para la fermentación de lactosa, pero carecen de la permeasa indispensable para que la lactosa entre en la célula son positivos para ONPG y negativos para lactosa.
10. **Producción de oxidasa**. La prueba de oxidasa detecta el componente *c* del complejo de citocromo-oxidasa. Los reactivos que se utilizan cambian de transparente a coloreado cuando se convierten de la forma reducida al estado oxidado. La reacción de oxidasa se demuestra a menudo en pruebas de inmunotransferencia, que pueden realizarse con rapidez en colonias aisladas. Esta prueba permite distinguir entre los bacilos gramnegativos, *Pseudomonas aeruginosa* (oxidasas +) y *E. coli* (oxidasas –).
11. **Producción de proteinasa**. La actividad proteolítica se detecta por la proliferación de microorganismos en presencia de sustratos como gelatina o huevo coagulado. Las cepas productoras de proteasa, como *P. aeruginosa* y *S. aureus*, son positivas en este análisis.
12. **Producción de ureasa**. La ureasa hidroliza la urea y produce dos moléculas de amoniaco y una molécula de CO_2. Esta reacción puede detectarse por el incremento del pH del medio de cultivo causado por la producción de amoniaco. Las especies positivas para ureasa varían en la cantidad de enzima producida; las bacterias pueden designarse, entonces, como positivas, débilmente positivas o negativas. *P. vulgaris* puede diferenciarse de otros bacilos entéricos con este análisis.
13. **Prueba de Voges-Proskauer**. Esta prueba detecta acetilmetilcarbinol (acetoína), un producto intermedio en la vía de butenglicol de fermentación de la glucosa. Esta prueba distingue entre bacilos entéricos.

(Reproducido con autorización de Ryan KJ, Ray CG (editors): *Sherris Medical Microbiology*, 5a. ed. McGraw-Hill, 2010. Copyright © The McGraw-Hill Companies. Modificado de TA Mietzner, 2014.

un *taxón* específico. En el cuadro 3-2 aparece una lista incompleta de las pruebas bioquímicas más frecuentes.

Pruebas inmunológicas: serotipos, serogrupos y serovariedades

La designación “sero” simplemente indica el uso de anticuerpos (policlonales o monoclonales) que reaccionan con estructuras específicas de la superficie celular bacteriana, como los lipopolisacáridos (LPS), los flagelos o los antígenos capsulares. Los términos “serotipo”, “serogrupo” y “serovariedad”, para fines prácticos, son idénticos; todos ellos utilizan la especificidad de estos anticuerpos para subdividir a las cepas de una especie bacteriana.

En determinadas circunstancias (p. ej., epidemias), es importante distinguir entre cepas de una especie dada o identificar una cepa en particular. Esto se conoce como **subtipificación**, y para realizarla se examinan colonias bacterianas en busca de características que permitan la discriminación más allá del nivel de la especie. Clásicamente, la subtipificación se lleva a cabo por biotipificación, serotipificación, pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y tipificación con bacteriófagos. Por ejemplo, se han identificado más de 130 serogrupos de *Vibrio cholerae* por sus diferencias antigénicas en el polisacárido O de sus lipopolisacáridos; sin embargo, sólo los serogrupos O1 y O139 se asocian a cólera epidémica y pandémica. En estos serogrupos, sólo las cepas que producen una pilosidad particular corregulada por toxinas y las que producen toxina del cólera son virulentas y causan la enfermedad. Por el contrario, hay cepas de *V. cholerae* no toxinógenas que no se han asociado a cólera pandémica y que se han aislado de muestras ambientales, de alimentos y de pacientes con diarrea esporádica.

La clonalidad respecto a colonias de microorganismos provenientes de un brote epidémico de un *punto de origen de diseminación* es un concepto importante en la epidemiología de las enfermedades infecciosas. Los microorganismos causales relacionados con estos brotes epidémicos suelen ser de carácter **clonal**; en otras palabras, se originan de una sola célula y, por lo tanto, para fines prácticos, son idénticos en términos genéticos. Así, la subtipificación desempeña una función importante en la diferenciación entre estos microorganismos en particular. Los adelantos recientes en biotecnología han mejorado de manera

notable la posibilidad de subtipificar los microorganismos. La tecnología de hibridoma ha conducido al desarrollo de anticuerpos monoclonales contra antígenos de superficie celular, que se han utilizado para crear sistemas de subtipificación muy estandarizados basados en anticuerpos y que describen los **serotipos** bacterianos. Esta es una herramienta importante para definir la propagación epidemiológica de una infección bacteriana.

Otros microorganismos no pueden identificarse como serotipos particulares. Por ejemplo, algunos patógenos (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae*) se transmite como un inóculo compuesto de **cuasiespecies** (lo que significa que existen variaciones antigénicas amplias entre las bacterias presentes en el inóculo). En estos casos, los grupos de hibridoma que reconocen las variantes de los microorganismos originales sirven para clasificar las **serovariantes**.

Diversidad genética

El valor de un criterio taxonómico depende del grupo biológico que se está comparando. Los rasgos que comparten todos o ninguno de los miembros de un grupo no se pueden utilizar para diferenciar a cada uno de ellos, pero sí para definir al grupo (p. ej., todos los estafilococos producen la enzima catalasa). Los avances en la biología molecular permiten ahora investigar la relación de genes o genomas mediante la comparación de secuencias de diversas bacterias. Se debe notar que la inestabilidad genética hace que ciertos rasgos sean muy variables dentro de un grupo biológico o incluso dentro de un grupo taxonómico. Por ejemplo, los genes que confieren resistencia antimicrobiana o los genes que codifican enzimas (utilización de lactosa), se transportan en **plásmidos** o **bacteriófagos** (capítulo 7), elementos genéticos extracromosomales que pueden ser transferidos entre bacterias distintas o que pueden ser integrados en un subgrupo de cepas bacterianas que son idénticas en los demás sentidos. Muchos microorganismos son difíciles de cultivar y en estos casos son útiles las técnicas que revelan su relación midiendo la hibridación entre ácidos nucleicos o analizando la secuencia del DNA.

SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN

Claves dicotómicas

Las claves dicotómicas organizan los rasgos bacterianos en una forma que permite la identificación lógica de los microorganismos. El sistema ideal debe contener el número mínimo de características necesarias para una clasificación correcta. Los grupos se dividen en subgrupos más pequeños con base en la presencia (+) o ausencia (–) de una característica diagnóstica. Continuar este proceso con distintas características guía al investigador hasta el subgrupo más pequeño que contenga al microorganismo analizado. Durante las primeras fases de este proceso, los microorganismos son asignados a subgrupos con base en características que no reflejan su relación genética. Por ejemplo, sería perfectamente razonable que una clave bacteriana incluyera a un grupo como "bacterias que forman pigmentos rojos cuando se propagan en un medio determinado"; no obstante, esto incluiría a algunas variantes sin relación alguna como *Serratia marcescens* (capítulo 15) y bacterias fotosintéticas púrpuras (capítulo 6). Estos dos grupos heterogéneos ocupan sitios distintos y dependen de un metabolismo energético totalmente diferente. Sin embargo, sería conveniente hacer una clasificación preliminar del grupo porque esto permitiría de inmediato que el investigador que tuviera que identificar un cultivo pigmentado de rojo redujera la variedad de posibilidades a unos cuantos grupos. En la figura 3-1 se muestra un ejemplo de clave dicotómica.

Taxonomía numérica con mediciones bioquímicas de actividad

La taxonomía numérica se popularizó durante la década de 1970. Estos esquemas de clasificación utilizan un gran número de características no ponderadas útiles desde el punto de vista taxonómico. Para estos análisis, se tiene que aislar una sola colonia bacteriana y utilizarse para inocular el formato de la prueba. Un ejemplo es el *Analytical Profile Index* (API™), que utiliza una taxonomía numérica para identificar una amplia variedad de microorganismos de importancia médica. El API consta de varias tiras de plástico, cada una de las cuales tiene 20 compartimentos pequeños que contienen las pruebas bioquímicas (figura 3-2). Los resultados de las pruebas con el API permiten identificar a casi todos los grupos de bacterias que se pueden cultivar y a más de 550 especies. Estos sistemas de identificación cuentan con bases de datos extensas de reacciones bioquímicas microbianas. Los grupos numéricos que se derivan de estas pruebas identifican distintas cepas bacterianas en diversos grados de similitud general (casi siempre > 80% en el nivel de la especie) con base en la frecuencia con la que comparten rasgos. Además, la clasificación numérica proporciona un porcentaje de frecuencia con la que todas las cepas de cada grupo exhiben características positivas. La limitante de este método es que es un **sistema estático**. Como tal, no tiene en cuenta la evolución de las bacterias ni el descubrimiento sistemático de bacterias patógenas nuevas.



FIGURA 3-2 Prueba API™ que demuestra cómo pueden identificarse las bacterias por medio de pruebas bioquímicas. Cada compartimento contiene un medio deshidratado que puede ser inoculado a partir de un cultivo bacteriano. Después de la incubación, los cambios de color se califican por número para producir un número que coincida con una especie y género bacterianos. (Por cortesía de bioMerieux, Inc).

Taxonomía basada en ácidos nucleicos

Desde 1975, los adelantos en el aislamiento, amplificación y secuenciación de ácidos nucleicos ha estimulado la evolución de los sistemas de subtipificación basados en ácidos nucleicos. Estos sistemas incluyen el análisis del perfil de plásmidos, análisis de restricción de fragmentos de endonucleasa, análisis de secuencias repetitivas, ribotipificación y secuenciación genómica. Estos métodos se describen a continuación en forma individual.

Análisis de plásmidos

Los plásmidos son elementos genéticos extracromosómicos (capítulo 7). Éstos pueden aislarse de una bacteria aislada y separada por electroforesis en gel de agarosa para determinar su número y tamaño. El análisis de plásmidos ha mostrado ser de utilidad para analizar brotes epidémicos que se circunscriben a un tiempo y espacio (p. ej., un brote epidémico en un hospital), en particular cuando se combina con otros métodos de identificación.

Análisis de endonucleasas de restricción

El uso de enzimas de restricción para desdoblar DNA en fragmentos separados es uno de los procedimientos más básicos en la biología molecular. Las endonucleasas de restricción reconocen secuencias cortas de DNA (secuencia de restricción) y desdoblan el DNA de doble cadena en el interior de esta secuencia o adyacente a la misma. Las secuencias de restricción varían de cuatro a más de 12 bases de longitud y ocurre a lo largo de todo el cromosoma bacteriano. Las enzimas de restricción que reconocen secuencias cortas (p. ej., cuatro pares de bases) ocurren más a menudo que aquellas que son específicas de secuencias más largas (p. ej., 12 pares de bases). Así, las enzimas que reconocen secuencias cortas de DNA producen más fragmentos que las enzimas que reconocen secuencias largas de DNA, las cuales se presentan con menos frecuencia. Varios métodos de subtipificación utilizan el DNA digerido por endonucleasas de restricción.

Un método consiste en aislar DNA de **plásmidos**, que en general tiene el tamaño de varias kilobases, y digerir este ácido nucleico con una enzima de restricción. Después del desdoblamiento enzimático, los segmentos fragmentados de los plásmidos se separan con electroforesis en gel de agarosa. Como los plásmidos portan material genético que contribuye directamente a la enfermedad y a menudo se desplazan de un organismo a otro, la presencia de un fragmento común puede confirmar que una cepa bacteriana específica era idéntica a otras cepas relacionadas con un brote epidémico.

Otro método consiste en el análisis de **DNA genómico**, que suele tener el tamaño de varias megabases. En este caso, se utilizan endonucleasas de restricción que realizan cortes en sitios de restricción poco frecuentes en el genoma bacteriano. La digestión del DNA con estas enzimas por lo general produce de cinco a 20 fragmentos con una longitud que va de 10 a 800 kilobases. La separación de estos fragmentos grandes de DNA se lleva a cabo con una técnica conocida como **electroforesis en gel de campo pulsátil** (PFGE), que requiere equipo especializado. En teoría, todas las cepas bacterianas pueden tipificarse con este método. Su ventaja es que el perfil de restricción consiste en un número finito de bandas bien definidas que representan la totalidad del cromosoma bacteriano en un patrón de fragmentos únicos de DNA.

Análisis genómico

El uso sistemático de secuenciación del genoma de DNA permite la comparación precisa de secuencias divergentes de DNA, lo que puede dar una medición de su grado de relación. Los genes para diferentes funciones, como aquellos que codifican los antígenos de superficie para escapar a vigilancia inmunitaria, divergen en distintos grados respecto a los genes "de mantenimiento", como los que codifican los citocromos. Así, la secuencia de DNA permite diferenciar entre genes rápidamente divergentes que pueden utilizarse para conocer la distancia genética entre grupos bacterianos muy relacionados. Las diferencias de secuencia entre los genes de mantenimiento pueden utilizarse para medir el grado de relación entre grupos de bacterias muy divergentes.

Las propiedades genéticas de las bacterias permiten intercambiar genes entre microorganismos diferentes. Además, la multiplicación de las bacterias es casi por completo vegetativa y sus mecanismos de intercambio genético rara vez comprenden la recombinación entre grandes porciones de sus genomas (capítulo 7). Por lo tanto, el concepto de una **especie**, que es la unidad fundamental de la filogenia eucariótica, tiene un significado completamente diferente cuando se aplica a las bacterias.

Existe una diversidad genética considerable entre especies bacterianas. La identificación química de DNA genómico bacteriano revela una amplia variedad de composiciones de bases de nucleótidos entre las diferentes especies bacterianas. Una medición de esto es el contenido de guanina + citosina (G + C). Si el contenido de G + C de dos especies bacterianas es similar, indica relación taxonómica.

Análisis de secuencias repetitivas

En la era genómica actual de la medicina molecular, se ha obtenido la secuencia de miles de genomas microbianos. En esta era de recursos bioinformáticos se obtiene una abundancia de información sobre la secuencia de DNA a fin de identificar objetivos novedosos para la subtipificación de patógenos, por ejemplo las **secuencias repetitivas** que se han observado en las diferentes especies (capítulo 7). Estas secuencias repetitivas se han denominado **DNA satélite** y tienen unidades repetidas que varían de 10 a 100 pares de bases. A menudo se conocen como **número variable de repeticiones en tándem** (**VNTR**, ***variable number tandem repeats***). Los VNTR se han encontrado en regiones con expresión génica controlada y con marco de lectura abierta. Las unidades repetidas y el número de copias repetidas lado a lado definen cada *locus* de VNTR. El método de genotipificación que utiliza la reacción en cadena de polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), que se conoce como **análisis VNTR de múltiples *locus*** (MLVA) aprovecha los niveles de diversidad generados por la variación del tamaño de las unidades repetidas y por el número de copias de un número de *locus* identificados. Se ha demostrado utilidad especial en la subtipificación de especies monomorfas como *Bacillus anthracis, Yersinia pestis* y *Francisella tularensis*.

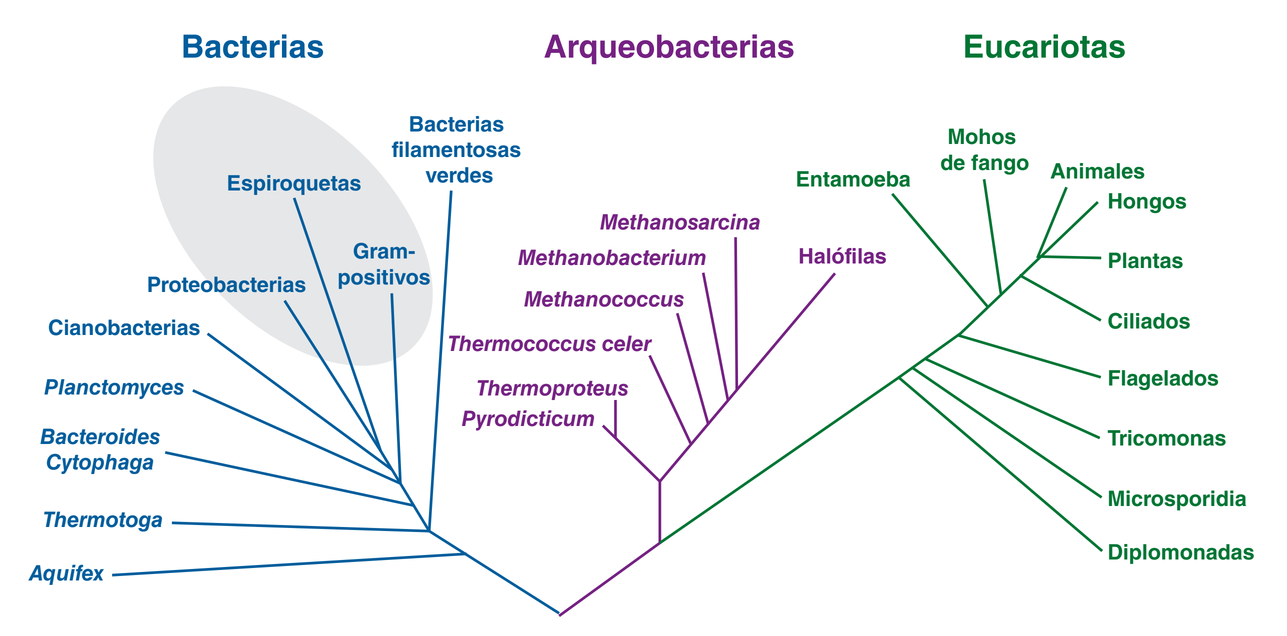


FIGURA 3-3 Árbol filogenético con base en la información del rARN y que muestra la separación de las familias de bacterias, arqueobacterias y eucariotas. Los grupos de bacterias patógenas mejor conocidas se encuentran en color gris. El único grupo de bacterias patógenas que no se acumula en esta área sombreada es el grupo *Bacteroides*.

RNA ribosómico

Los ribosomas tienen una función fundamental en la síntesis de las proteínas para todos los organismos. Las secuencias genéticas que codifican tanto RNA ribosómico (rRNA) como proteínas (ambas son necesarias para formar un ribosoma funcional) se han conservado a lo largo de la evolución, separándose con más lentitud que otros genes cromosómicos. Al comparar la secuencia de nucleótidos del RNA ribosómico 16S de un espectro de fuentes procarióticas, se observaron relaciones evolutivas entre organismos muy divergentes, con lo que se descubrió un reino nuevo, las **arqueobacterias**. El árbol filogenético basado en la información del RNA ribosómico (rARN), que muestra la división de las bacterias, arqueobacterias y familias eucarióticas, se ilustra en la figura 3-3, en la que se observan los tres dominios principales de vida biológica como se conocen en la actualidad. Con base en este esquema, dos reinos, las eubacterias (bacterias verdaderas) y las arqueobacterias difieren de la rama eucariótica.

La técnica de inmunotransferencia de Southern recibió su nombre de su inventor, Edwin Mellor Southern, y se ha utilizado como método de subtipificación para identificar cepas relacionadas con brotes epidémicos. Para este análisis, las preparaciones de DNA de colonias bacterianas se someten a digestión por endonucleasas de restricción. Después de la electroforesis en gel de agarosa, los fragmentos de restricción separados se transfieren a una membrana de nitrocelulosa o de nylon. Estos fragmentos de DNA de doble cadena se convierten en primer lugar a secuencias lineales de una cadena. Con el uso de fragmentos marcados de DNA como sonda, es posible identificar los fragmentos de restricción que contienen secuencias (*locus*) que son homólogos a la sonda por complementación de los fragmentos unidos de una sola cadena (figura 3-4).

El análisis de inmunotransferencia de Southern puede servir para detectar polimorfismo de los genes de rRNA, que está presente en todas las bacterias. Como las secuencias ribosómicas están muy conservadas, pueden detectarse con una sonda común preparada con las fracciones 16S y 23S de rRNA de una eubacteria (figura 3-6). Muchos microorganismos tienen múltiples copias (cinco a siete) de estos genes, lo que ocasiona patrones con un número suficiente de bandas que ofrezca un buen poder de discriminación; sin embargo, la ribotipificación tiene utilidad limitada para algunos microorganismos, como micobacterias, que tienen una sola copia de estos genes.

DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CATEGORÍAS Y GRUPOS DE BACTERIAS

Manual de Bergey de bacteriología sistemática

La obra definitiva sobre la organización taxonómica de las bacterias es la última edición del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Publicado por primera vez en 1923, este libro clasifica en términos taxonómicos, en la forma de clave, las bacterias conocidas que han sido cultivadas o no, o bien descritas. Otro volumen, el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,* ayuda a identificar a las bacterias que han sido descritas y cultivadas. En el cuadro 3-3 se presentan las principales bacterias que causan enfermedades infecciosas, según el *Bergey's Manual.* Es probable que la información que cambia constantemente acerca de las relaciones filogenéticas genere modificaciones ulteriores en la organización de los grupos bacterianos dentro del *Bergey's Manual,* es por ello que sus nominaciones se deben considerar como trabajo en progreso.

Como ya se describió en el capítulo 2, hay dos grupos de organismos procarióticos: eubacterias y arqueobacterias. Ambos son microorganismos unicelulares pequeños que se multiplican en forma asexual. El término eubacterias se refiere

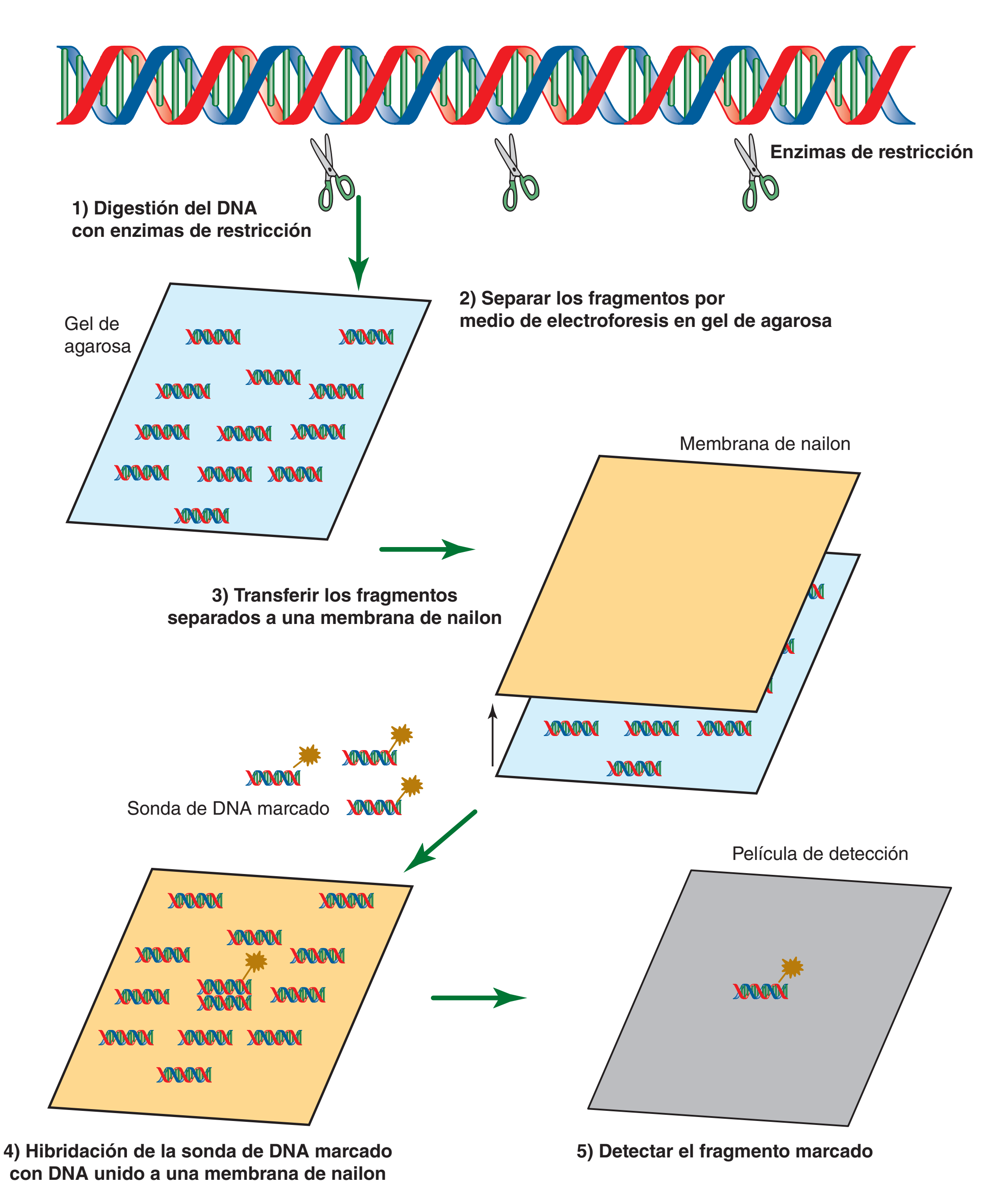


FIGURA 3-4 Técnica de inmunotransferencia de Southern que muestra cómo es posible identificar loci específicos en fragmentos divididos de DNA por medio de una sonda de DNA marcado. En esencia, este procedimiento permite distinguir DNA en tres niveles: 1) en el nivel del reconocimiento de enzimas de restricción, 2) por el tamaño del fragmento de DNA y 3) por la hibridación de la sonda de DNA a un locus específico definido por una banda específica en una posición específica de la membrana.

a las bacterias clásicas, según lo ha considerado la ciencia a lo largo de la historia. Carecen de un núcleo verdadero, poseen lípidos característicos que forman sus membranas, tienen una pared celular de peptidoglucano y una maquinaria para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos que se puede inhibir en forma selectiva por medio de antimicrobianos. Por el contrario, las arqueobacterias no poseen una pared celular clásica de peptidoglucano y tienen muchas características (p. ej., maquinaria para la síntesis de proteínas y multiplicación de ácidos nucleicos) que son similares a las de las células eucariotas.

Eubacterias

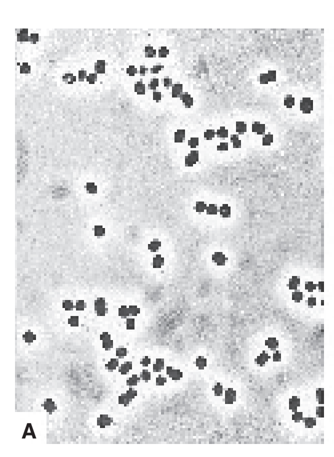
A. Eubacterias gramnegativas

Este es un grupo heterogéneo de bacterias con una cubierta celular compleja (tipo gramnegativa) que consta de una membrana externa, un espacio periplásmico que contiene una capa delgada de peptidoglucano y una membrana citoplásmica. La forma de la célula (figura 3-5) puede ser esférica, ovalada, como bastón recto o curvo, helicoidal o filamentosa; algunas se encuentran recubiertas o encapsuladas. Se reproducen por

CUADRO 3-3 Categorías y grupos principales de bacterias patógenas en seres humanos como parte de un esquema de identificación descrito en el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9a. ed.

Manual de Bergey de bacteriología sistemática	
I. Eubacterias gramnegativas con paredes celulares	
Grupo 1: Espiroquetas	*Treponema*
	Borrelia
	Leptospira
Grupo 2: Bacterias aerobias/microaerófilas, móviles helicoidales/vibroides gramnegativas	*Campylobacter*
	Helicobacter
	Spirillum
Grupo 3: Bacterias curvas inmóviles (o rara vez móviles)	Ninguna
Grupo 4: Bacilos y cocos gramnegativos aerobios/microaeófilos	*Alcaligenes*
	Bordetella
	Brucella
	Francisella
	Legionella
	Moraxella
	Neisseria
	Pseudomonas
	Rochalimaea
	Bacteroides (algunas especies)
Grupo 5: Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos	*Escherichia (y bacterias coliformes afines)*
	Klebsiella
	Proteus
	Providencia
	Salmonella
	Shigella
	Yersinia
	Vibrio
	Haemophilus
	Pasteurella
Grupo 6: Bacilos gramnegativos, anaerobios, rectos, curvos y helicoidales	*Bacteroides*
	Fusobacterium
	Prevotella
Grupo 7: Bacterias desasimiladoras de sulfato o reductoras de azufre	*Ninguna*
Grupo 8: Cocos gramnegativos anaerobios	*Ninguno*
Grupo 9: Rickettsias y clamidias	*Rickettsia*
	Coxiella
	Chlamydia
Grupo 10: Bacterias fotótrofas anoxigénicas	Ninguna
Grupo 11: Bacterias fotótrofas oxigénicas	Ninguna
Grupo 12: Bacterias aerobias quimiolitótrofas y microorganismos variados	Ninguna
Grupo 13: Bacterias con apéndice o yemas	Ninguna
Grupo 14: Bacterias envainadas	Ninguna
Grupo 15: Bacterias deslizantes no fotosintéticas y no formadoras de grupos fructíferos	*Capnocytophaga*
Grupo 16: Bacterias deslizantes formadoras de grupos fructíferos: mixobacterias	Ninguna
II. Bacterias grampositivas con pared celular	
Grupo 17: Cocos grampositivos	*Enterococcus*
	Peptostreptococcus
	Staphylococcus
	Streptococcus
Grupo 18: Bacilos y cocos grampositivos formadores de endosporas	*Bacillus*
	Clostridium
Grupo 19: Bacilos grampositivos regulares no formadores de esporas	*Erysipelothrix*
	Listeria
Grupo 20: Bacilos grampositivos irregulares no formadores de esporas	*Actinomyces*
	Corynebacterium
	Mobiluncus
Grupo 21: Micobacterias	*Mycobacterium*
Grupo 22-29: Actinomicetos	*Nocardia*
	Streptomyces
	Rhodococcus
III. Eubacterias sin pared celular: Micoplasmas o Mollicutes	*Mycoplasma*
Grupo 30: Micoplasmas	*Ureaplasma*
IV. Arqueobacterias	
Grupo 31: Metanógenos	Ninguno
Grupo 32: Arqueorreductores de sulfato	Ninguno
Grupo 33: Arqueobacterias excesivamente halófilas	Ninguno
Grupo 34: Arqueobacterias sin pared celular	Ninguno
Grupo 35: Metabolizadores excesivamente termófilos y metabolizadores de azufre excesivamente termófilos	Ninguno

apter 03_Carroll_4R.indd 50 14/04/16





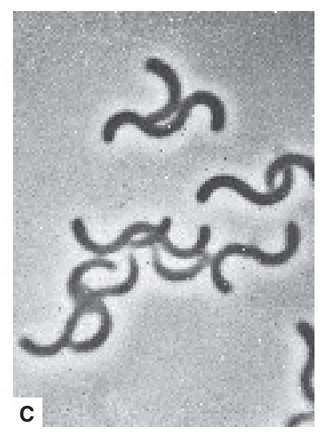


FIGURA 3-5 Formas celulares observadas entre las eubacterias. **A:** Cocos. **B:** Bastones (bacilos). **C:** Espirales. (Contraste de fase, 1500×) (Reimpresa con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World,* 3a. ed. Derechos reservados © 1970. Con autorización de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ. Impresas y reproducidas electrónicamente con autorización de Pearson Education, Inc. Nueva York, Nueva York.)

fisión binaria, pero algunos grupos se reproducen por gemación. Las mixobacterias forman cuerpos fructíferos y mixosporas. Aquellas bacterias que pueden moverse lo hacen por medio de flagelos o por deslizamiento. Los miembros de esta categoría pueden ser **fotótrofos** o **no fotótrofos** (capítulo 5) y comprenden especies **aerobias**, **anaerobias**, **anaerobias facultativas** y **microaerófilas**.

B. Eubacterias grampositivas

Estas bacterias tienen un perfil de pared celular tipo grampositivo y las células por lo general, pero no siempre, son grampositivas. La cubierta celular de los organismos grampositivos consta de una pared gruesa que establece la forma de la célula y una membrana citoplásmica. Estas células pueden ser encapsuladas y tener motilidad por medio de flagelos. Las células son esféricas, bacilares o filamentosas; los bastones y filamentos son ramificados o no ramificados y quizá muestren una ramificación verdadera. La reproducción se realiza generalmente por fisión binaria. Algunas bacterias de esta categoría producen **esporas** (p. ej., *Bacillus* y *Clostridium* spp.) como formas latentes que son muy resistentes a la desinfección. Las eubacterias grampositivas por lo general son **heterótrofos quimiosintéticos** (capítulo 5) y comprenden especies aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas. Los grupos dentro de esta categoría comprenden bacterias asporógenas simples y esporógenas, así como a los actinomicetos complejos desde el punto de vista estructural y otros microorganismos relacionados.

C. Eubacterias sin paredes celulares

Estos son microorganismos que carecen de pared celular (a menudo llamados **micoplasmas**, que forman la clase Mollicutes) y no sintetizan los precursores del peptidoglucano. Se encuentran encerrados por una membrana unitaria, la membrana plasmática (figura 3-6). Son similares a las **formas L** que son generadas por muchas especies de bacterias (principalmente eubacterias grampositivas); sin embargo, a diferencia de las formas L, los micoplasmas no cambian a un estado con pared y no existen relaciones antigénicas entre los micoplasmas y formas L eubacterianas.

Seis géneros han sido designados como micoplasmas con base en su hábitat; sin embargo, sólo dos géneros contienen patógenos animales. Los micoplasmas son microorganismos altamente polimorfos cuyo tamaño varía desde vesicular hasta muy pequeño (0.2 μm); son considerados microorganismos filtrables (es decir que son muy pequeñas para ser retenidos por los filtros que atrapan la mayor parte de las bacterias). Se reproducen por gemación, fragmentación o fisión binaria, de manera aislada o en combinación. La mayor parte de las especies necesita un medio complejo para crecer y tiende a formar

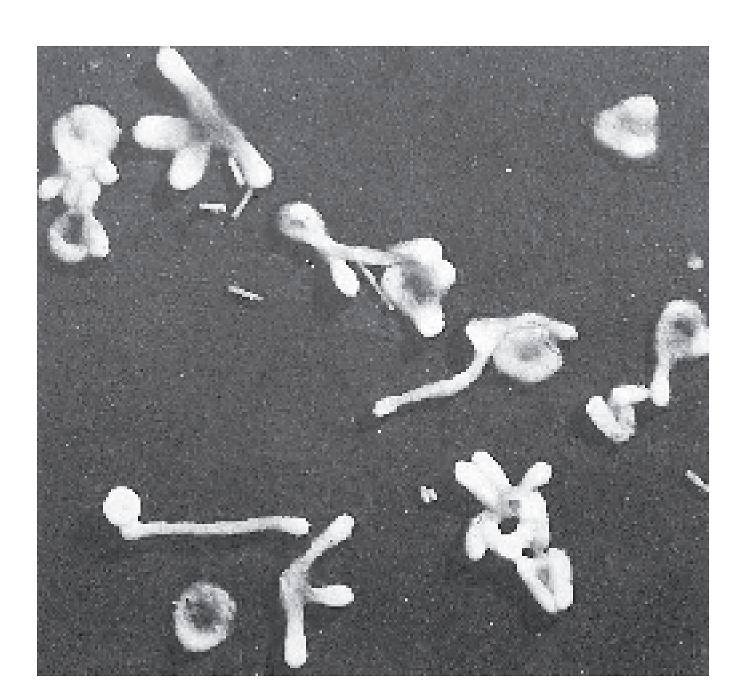


FIGURA 3-6 Microfotografía electrónica de las células de un miembro del grupo de los micoplasmas, el microorganismo causal de la bronconeumonía en la rata (1960×). (Reimpresa con autorización de Klieneberger-Nobel E, Cuckow FW: A study of organisms of the pleuropneumonia group by electron microscopy. *J Gen Microbiol* 1955;12:99.)

colonias características con forma de "huevo estrellado" en un medio sólido. Una característica única de los Mollicutes es que algunos géneros necesitan colesterol para crecer; el colesterol no esterificado es un constituyente único de las membranas tanto de las especies de micoplasmas que requieren o no esteroles siempre y cuando éste se encuentre en el medio.

Arqueobacterias

Estos microorganismos habitan principalmente los ambientes terrestres y acuáticos extremos (concentración alta de sal, temperaturas elevadas, ambiente anaerobio) y a menudo se les llama "*extremófilas*"; algunas son simbiontes en el tubo digestivo de los animales. Las arqueobacterias comprenden microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos que son **quimiolitótrofos**, **heterótrofos** o **heterótrofos facultativos**. Algunas especies son **mesófilas**, mientras que otras son capaces de crecer a temperaturas superiores a 100°C. Estas arqueobacterias hipertermófilas están adaptadas para crecer y proliferar a temperaturas altas. Con algunas excepciones, las enzimas aisladas a partir de estos microorganismos son más termoestables que sus contrapartes obtenidas de microorganismos mesófilos. Algunas de estas enzimas termoestables, como la DNA polimerasa de *Thermus aquaticus* (Taq polimerasa), son componentes importantes de los métodos de amplificación del DNA como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*).

Las arqueobacterias se distinguen de las eubacterias, en parte, por la ausencia de una pared celular de peptidoglucano, poseen lípidos de isoprenoide diéter o diglicerol tetraéter y expresan secuencias características de RNA ribosómico. Asimismo, las arqueobacterias comparten algunas características moleculares con las eubacterias (cuadro 3-4). Las células tienen diversas formas incluidas las esféricas, espirales y como placa o bastón; también existen variedades unicelulares o multicelulares en forma de filamentos o conglomerados. Su multiplicación es por fisión binaria, gemación, constricción, fragmentación o algún otro mecanismo desconocido.

MÉTODOS QUE NO REQUIEREN CULTIVO PARA IDENTIFICAR MICROORGANISMOS PATÓGENOS

Los intentos por calcular el número total de eubacterias, arqueobacterias y virus resultan infructuosos debido a las dificultades para su obtención y aislamiento a partir del ambiente. Como se indicó antes, los cálculos indican que el número de taxones microbianos no cultivados es mucho mayor que el de los microorganismos que se han cultivado. Los cálculos más recientes indican que el número de especies bacterianas en el mundo es de 10^7 a 10^9. Hasta hace poco tiempo, para identificar microorganismos era necesario aislar cultivos puros y luego realizar una serie de pruebas fisiológicas y bioquímicas. Los médicos saben desde hace tiempo que muchas enfermedades son producidas por microorganismos viables que no se pueden cultivar. En la actualidad los científicos usan técnicas como la PCR y rRNA para identificar microorganismos patógenos *in situ*. La primera fase de este método comprende la extracción del DNA de una muestra, el uso de técnicas moleculares tradicionales para obtener una colección de clones, la extracción de información de las secuencias de rRNA y el análisis comparativo de las secuencias extraídas. De esta manera se obtiene información sobre la identidad o afinidad de las secuencias frente a las bases de datos existentes. En la segunda fase se debe comprobar que las secuencias provienen de células de la muestra original por medio de hibridación *in situ* con sondas específicas para ciertas secuencias. Este método se ha utilizado para identificar microorganismos patógenos. Por ejemplo, un microorganismo patógeno que no se había catalogado antes, ahora se identificó como la bacteria con forma de bastón vinculada con la enfermedad de Whipple ahora llamada *Tropheryma whipplei*. Esta técnica de rRNA también se ha utilizado para identificar al agente causante de la angiomatosis bacilar como *Bartonella henselae* y para demostrar que el patógeno oportunista *Pneumocystis jiroveci* forma parte de la familia de los hongos. Sin duda, ésta y otras técnicas permitirán identificar otros microorganismos patógenos en el futuro.

CUADRO 3-4 Características principales que comparten las arqueobacterias y células eucarióticas y que no existen en las eubacterias

Característica	Eubacteria	Arqueobacterias, eucariotas
El factor-2 de elongación (EF-2) contiene al aminoácido diftamida y por lo tanto es ADP-ribosilable por la toxina de la difteria	No	Sí
El metionil tRNA iniciador sin formilación	No	Sí
Algunos genes de tRNA contienen intrones	No	Sí en eucariotas
La síntesis de proteínas es inhibida por anisomicina, pero no por cloranfenicol	No	Sí
Las polimerasas de RNA dependientes de DNA son enzimas con múltiples componentes que son insensibles a los antibióticos rifampicina y estreptomicina	No	Sí
Las polimerasas de RNA dependientes de DNA son enzimas con múltiples componentes insensibles a los antibióticos rifampicina y estreptolidigina	No	Sí

apter 03_Carroll_4R.indd 52 14/04/16

OBJETIVOS

1. Comprender la importancia fundamental del vocabulario taxonómico para comunicar la ciencia de las enfermedades infecciosas.
2. Conocer las categorías taxonómicas.
3. Reconocer las características de proliferación, bioquímicas y genéticas que se utilizan para clasificar las bacterias.
4. Comprender las diferencias entre las eubacterias, arqueobacterias y eucariotas.
5. Familiarizarse con las distintas herramientas utilizadas en la taxonomía basada en ácidos nucleicos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Las eubacterias que carecen de paredes celulares y no sintetizan los precursores del peptidoglucano se denominan:
   (A) Bacterias gramnegativas
   (B) Virus
   (C) Micoplasmas
   (D) Serovariedad
   (E) Bacilos
2. Las arqueobacterias se distinguen de las eubacterias por su falta de:
   (A) DNA
   (B) RNA
   (C) Ribosomas
   (D) Peptidoglucano
   (E) Núcleo
3. Un paciente de 16 años de edad con fibrosis quística es hospitalizado. El cultivo de su esputo arroja *Burkholderia cepacia*. Posteriormente, aparecen otros dos pacientes con bacteremia por *B. cepacia* y el microorganismo se cultiva en el esputo de otros cuatro pacientes. Durante este brote hospitalario de *B. cepacia,* se están realizando estudios de subtipificación en 50 muestras del ambiente y siete pacientes para identificar el origen del brote. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil para esta tarea?
   (A) Cultivo
   (B) Ribotipificación
   (C) Secuencia de rRNA 16S
   (D) Pruebas de sensibilidad antimicrobiana
   (E) Secuencia de ácidos nucleicos
4. En las muestras hísticas obtenidas de pacientes con una enfermedad desconocida, se observa un microorganismo grampositivo que no se puede cultivar. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil para identificar al microorganismo?
   (A) Serología
   (B) Amplificación con PCR y secuencia de genes de rRNA
   (C) Electroforesis enzimática de múltiples loci
   (D) Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida
   (E) Electroforesis pulsada en gel de campo
5. La DNA polimerasa de *Thermus aquaticus* es un componente importante de los métodos de amplificación de DNA como la reacción en cadena de polimerasa. Este microorganismo crece a temperaturas mayores de 100°C. Los microorganismos que crecen a estas temperaturas se denominan:
   (A) Mesófilos
   (B) Psicrófilos
   (C) Halófilos
   (D) Termófilos
   (E) Quimiolitótrofos
6. Una bacteria con un genoma que tiene un contenido de G + C de 45% alberga un plásmido que codifica un gen con contenido de G + C de 55%. ¿A qué conclusiones puede llegarse con esta información?
   (A) Este gen codifica una peptidiltransferasa de la pared celular
   (B) Este gen codifica un citocromo bacteriano crítico
   (C) Este gen codifica un RNA singular de transferencia
   (D) Este gen codifica un plásmido de polimerasa de DNA dependiente de RNA
   (E) Este gen codifica un polisacárido capsular con diversidad antigénica

Respuestas

1. C	3. E	5. D
2. D	4. B	6. E

BIBLIOGRAFÍA

Achtman M, Wagner M: Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:431.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part A. Introductory essays. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 2. Springer, 2005.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part B. The gammaproteobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 2. Springer, 2005.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part C. The alpha-, beta-, delta-, and epsilonproteobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 3. Springer, 2005.

Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. ASM Press, 2000.

Curtis TP, Sloan WT, Scannell JW: Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:10494.

Edman JC, *et al.*: Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature (London)* 1988;334:519.

Fernandez LA: Exploring prokaryotic diversity: There are other molecular worlds. *Molec Microbiol* 2005;55:5-15.

Fredericks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.

Holt JG, *et al.* (editors): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9a. ed. Williams & Wilkins, 1994.

Medini D, *et al.*: Microbiology in the post-genomic era. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:429.

Mizrahi-Man O, Davenport ER, Gilad Y: Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: Evaluation of effective study designs. *PLOS* 2013;8:e532608

Persing DH, *et al.* (editors): *Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice*. ASM Press, 2004.

Riley LW: *Molecular Epidemiology of Infectious Diseases. Principles and Practices*. ASM Press, 2004.

Rosello-Mora R, Amann R: The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev* 2001;25:39.

Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. *Microbiol Molec Biol Rev* 2004;68:686.

Stringer JR, *et al.*: A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for Pneumocystis from humans. *Emerg Infect Dis* 2002;8:891.

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6578.



apter 03_Carroll_4R.indd 54 14/04/16

CAPÍTULO

4

Crecimiento, supervivencia y muerte de microorganismos

SUPERVIVENCIA DE MICROORGANISMOS EN UN AMBIENTE NATURAL

La población de microorganismos en la biosfera se mantiene casi constante debido a que la muerte de éstos equilibra su crecimiento. La supervivencia de cualquier grupo microbiano en un nicho ambiental es influenciada por la exitosa competencia de nutrientes y por el mantenimiento de un acervo de todas las células vivas, a menudo compuesto de células humanas y un conjunto de microorganismos diferentes (conocidos como microbioma o microbiota). Es indispensable comprender la competencia por recursos nutritivos en un ambiente determinado para entender el crecimiento, la supervivencia y la muerte de especies bacterianas (un conjunto de conceptos conocidos como fisiología).

Gran parte del conocimiento de la fisiología microbiana proviene del estudio de cultivos aislados que crecen en condiciones óptimas (con exceso de nutrientes) en laboratorios. Sin embargo, la mayoría de los microorganismos compite en ambientes naturales bajo condiciones de estrés nutricional. Además, una microbiota diferente puede ocupar un nicho microbiano ambiental libre en poco tiempo. Al final, las complejas interacciones que garantizan la sobrevivencia de un microbioma específico consisten en un balance entre la disponibilidad de nutrientes y el rendimiento fisiológico.

SIGNIFICADO DE CRECIMIENTO

El crecimiento es el incremento ordenado de la suma de todos los componentes de un organismo. El aumento de tamaño que resulta cuando una célula absorbe agua o almacena lípidos o polisacáridos no es crecimiento real. La multiplicación de células es consecuencia de fisión binaria; ésta incrementa el número de las bacterias individuales que conforman una población, conocida como cultivo.

Medición de concentraciones microbianas

Las concentraciones microbianas pueden medirse en términos de la concentración de células (el número de células viables por unidad de volumen de cultivo) o de la concentración de biomasa (el peso seco de células por unidad de volumen de cultivo). Estos dos parámetros no siempre son equivalentes debido a que el promedio de peso seco de una célula varía en diferentes etapas de un cultivo. Tampoco tienen la misma relevancia: por ejemplo, en estudios de genética e inactivación de microbios, la concentración de células es el parámetro más relevante; en estudios de nutrición o bioquímica microbiana, la concentración de biomasa es la medida más importante.

A. Recuento de células viables

Por lo general, el **recuento de células viables** (cuadro 4-1) es la medida de la concentración de células. Para realizarlo, se obtiene 1 ml de una suspensión de bacterias y se realizan diluciones seriales 1:10; después se cultivan alícuotas de 0.1 ml en un medio de agar. Cada bacteria invisible individual (o acumulación de bacterias) crecerá para formar una colonia visible que puede contarse (capítulo 5). Para propósitos estadísticos, las placas que contienen entre 30 y 300 colonias proporcionan los datos más precisos. El conteo de la placa × la dilución × 10 dará el número de unidades formadoras de colonias (CFU, *colony forming units*)/ml en la suspensión bacteriana no diluida. Con este método, las bacterias muertas en la suspensión no contribuyen al recuento bacteriano final.

B. Turbidez

Para la mayoría de los propósitos, la **turbidez** de un cultivo (calculada por medios fotoeléctricos) puede relacionarse con el recuento de células viables utilizando una **curva estándar**. Como alternativa, en ocasiones es posible realizar un cálculo visual aproximado: por ejemplo, una suspensión poco turbia de *Escherichia coli* contiene cerca de 10^7 células/ml, mientras que una suspensión muy turbia incluye cerca de 10^8 células/ml. La correlación entre la turbidez y el recuento de células viables puede variar durante el crecimiento y la muerte de un cultivo; las células pueden perder viabilidad sin disminuir la turbidez del cultivo.

C. Densidad de biomasa

En principio, es posible medir la biomasa de forma directa determinando el peso seco de un cultivo microbiano después de que se ha lavado con agua destilada. En la práctica, este procedimiento es complejo y requiere de una curva estándar que correlacione el peso seco con el recuento de células viables. De manera alternativa, la concentración de biomasa puede calcularse de manera indirecta al medir un componente celular

CUADRO 4-1 Ejemplo de un recuento de células viables

Dilución	Conteo en placa[a]
Sin diluir	Incontable
10^{-1}	Incontable
10^{-2}	510
10^{-3}	72
10^{-4}	6
10^{-5}	1

[a] Cada recuento es el promedio de tres réplicas.

importante, como las proteínas, o al determinar el volumen ocupado por células establecidas fuera de la suspensión.

CRECIMIENTO EXPONENCIAL

Constante de la tasa de crecimiento

Las tasa de crecimiento de células ilimitado por nutriente es: la tasa de crecimiento (medida en gramos de biomasa producidos por hora) es el producto del **tiempo** (t), la **constante de la tasa de crecimiento** (k) y la **concentración de la biomasa** B:

$$\frac{dB}{dt} = kB \qquad (1)$$

El despeje de la ecuación 1 demuestra que la constante de la tasa de crecimiento es la tasa a la cual las células producen más células:

$$k = \frac{Bdt}{dB} \qquad (2)$$

Una constante de la tasa de crecimiento de 4.3 h^{-1}, una de las más altas registradas, indica que cada gramo de células produce 4.3 g de células por hora durante este periodo de incremento. Organismos que crecen con más lentitud pueden tener constantes de tasas de crecimiento tan bajas como 0.02 h^{-1}. Con este valor de k, cada gramo de células en el cultivo produce 0.02 g de células por hora.

La integración de la ecuación 2 es igual a :

$$\ln\frac{B_1}{B_0} = 2.3\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = k(t_1 - t_0) \qquad (3)$$

El logaritmo natural del cociente entre B_1 (la biomasa en el tiempo 1 [t_1]) y B_0 (la biomasa en el tiempo cero [t_0]) es igual al producto de la constante de la tasa de crecimiento (k) y la diferencia de tiempo ($t_1 - t_0$). El crecimiento que obedece a la ecuación (3) se denomina exponencial debido a que la biomasa se incrementa de esta forma respecto al tiempo. Para obtener correlaciones lineales de crecimiento exponencial se debe graficar el logaritmo de la concentración de biomasa (B) como una función del tiempo (t).

Cálculo de la constante de la tasa de crecimiento y predicción de la magnitud de crecimiento

Las bacterias se reproducen por **fisión binaria**; el tiempo promedio requerido para que la población, o la biomasa, se duplique se conoce como **tiempo de generación** o **tiempo de duplicación** (t_d). Por lo general, el t_d se determina graficando la cantidad de crecimiento en una escala semilogarítmica como una función del tiempo; el tiempo necesario para duplicar la biomasa es el t_d (figura 4-1). La constante de la tasa de crecimiento puede deducirse a partir del tiempo de duplicación, sustituyendo el valor 2 por B_1/B_0 y t_d por $t_1 - t_0$ en la ecuación 3, lo cual es igual a:

$$\ln 2 = kt_d$$
$$k = \frac{\ln 2}{t_d} \qquad (4)$$

Un tiempo de duplicación rápido corresponde a una elevada constante de la tasa de crecimiento. Por ejemplo, un tiempo de duplicación de 10 min (0.17 h) corresponde a valor de k de 4.1 h^{-1}. Un tiempo de duplicación de 35 h (relativamente largo) indica una constante de la tasa de crecimiento de 0.02 h^{-1}.

La constante de la tasa de crecimiento resultante puede utilizarse para calcular la cantidad de crecimiento que ocurrirá en un periodo específico o para prever el tiempo necesario para un crecimiento determinado.

El crecimiento en un lapso específico se puede pronosticar con base en el siguiente despeje de la ecuación 3:

$$\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = \frac{k(t_1 - t_0)}{2.3} \qquad (5)$$

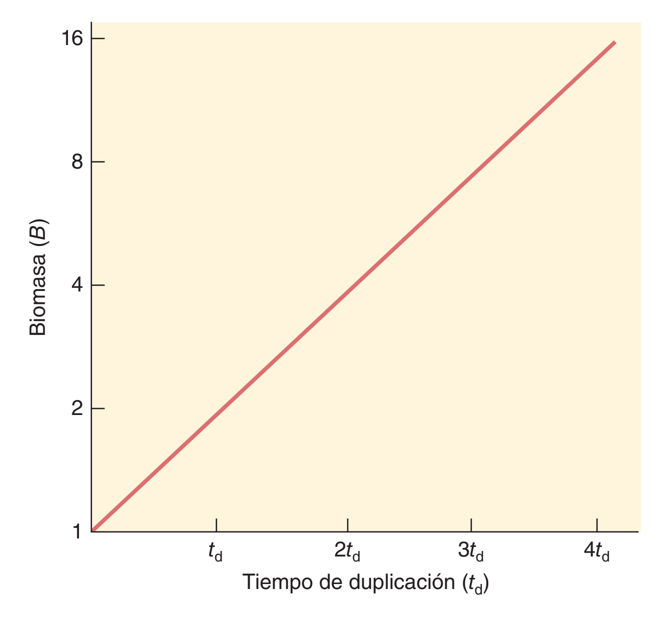


FIGURA 4-1 Gráfica de biomasa contra tiempo de duplicación, que muestra el crecimiento exponencial lineal que ocurriría en un sistema cerrado. La biomasa (B) aumenta al doble con cada tiempo de duplicación (t_d).

Es posible determinar el crecimiento que ocurriría si un cultivo con una constante de la tasa de crecimiento de 4.1 h^{-1} creciera de manera exponencial durante 5 h:

$$\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = \frac{4.1\ \text{h}^{-1} \times 5\ \text{h}}{2.3} \quad (6)$$

En este ejemplo, el incremento de la biomasa es 10^{-9} g; una sola bacteria con un peso seco de 2×10^{-13} g incrementaría a 2×10^{-4} g (0.2 mg) de biomasa, una cantidad que poblaría de forma densa un cultivo de 5 ml. Otras 5 h de crecimiento a esta tasa producirían 200 kg de peso seco de biomasa, o cerca de una tonelada de células. Esto ocurriría si los nutrientes fueran ilimitados, lo cual no sucede en la naturaleza.

Otro despeje de la ecuación 3 permite calcular el tiempo necesario para que ocurra una cantidad específica de crecimiento. En la ecuación 7, que se muestra más adelante, N (la concentración de células) se sustituye por B (la concentración de biomasa) para poder calcular el tiempo necesario para un incremento específico del número de células.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3\log_{10}(N_1/N_0)}{k} \quad (7)$$

Al utilizar la ecuación 7 es posible, por ejemplo, determinar el tiempo necesario para que una sola célula de crecimiento lento con una constante de la tasa de crecimiento de 0.02 h^{-1} forme una suspensión de células poco turbia con una concentración de 10^7 células por mililitro.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3 \times 7}{0.02\ \text{h}^{-1}} \quad (8)$$

El resultado de la ecuación 8 revela que serían necesarias cerca de 800 h (un poco más de un mes) para que ocurriera un crecimiento de dicha magnitud. La supervivencia de organismos de desarrollo lento implica que la carrera por la sobrevivencia biológica no siempre la ganan los organismos que se reproducen más rápido sino que prosperan las especies que compiten de forma exitosa por los nutrientes y evitan la aniquilación por predadores y otros riesgos ambientales.

CURVA DE CRECIMIENTO EN CULTIVOS DISCONTINUOS

Si un volumen fijo de medio líquido se inocula con células microbianas provenientes de un cultivo que ya ha crecido hasta la saturación, y se determina y grafica de forma periódica el número de células viables por mililitro, por lo general se obtiene una curva como la que se muestra en la figura 4-2. Las fases de la curva de crecimiento bacteriano que se muestran en dicha imagen reflejan los eventos que ocurren en una población de organismos, no en células individuales. Este tipo de cultivo se conoce como **cultivo discontinuo**. Una curva de crecimiento típica muestra cuatro fases (cuadro 4-2). El cultivo discontinuo es un sistema cerrado con recursos finitos, muy diferente al ambiente que se encuentra en un hospedador humano donde los nutrientes se metabolizan por las bacterias

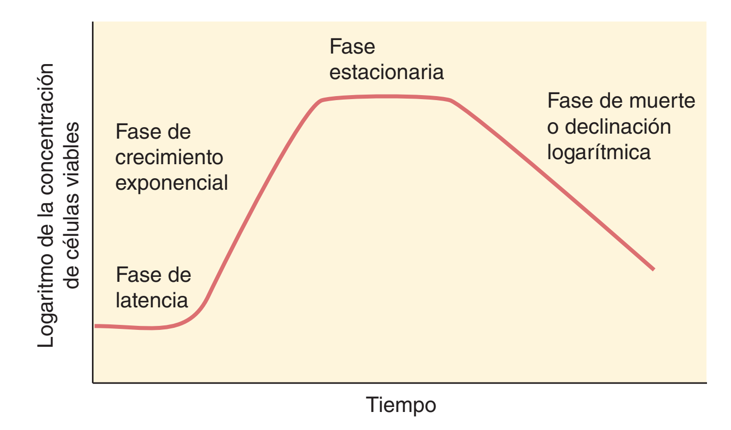


FIGURA 4-2 Gráfica del logaritmo de la concentración de células viables contra el tiempo, donde se observa una curva ideal de crecimiento bacteriano. En la figura se observan las fases de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte, con las tasas aproximadas de incremento o disminución que representan lo que se esperaría observar después de inocular una sola colonia bacteriana en un sistema cerrado de cultivo discontinuo.

y las células humanas. Sin embargo, comprender cómo ocurre el crecimiento en cultivos discontinuos es fundamental para el estudio de la genética y la fisiología de la replicación bacteriana, incluyendo las fases de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte que comprende este proceso.

Fase de latencia

Durante la fase de latencia, las células (que carecen de metabolitos y enzimas como resultado de las condiciones desfavorables que existieron al final de su cultivo previo) se adaptan a su nuevo ambiente. Las enzimas y sus intermediarios se forman y acumulan hasta que alcanzan concentraciones que permiten reiniciar el crecimiento.

A menudo las células que se cultivan en un medio completamente diferente al original son genéticamente incapaces de crecer. En dichos casos puede presentarse un periodo de latencia prolongado, que representa el lapso en el que algunas variantes del inóculo se multiplican lo suficiente para que sea aparente un incremento neto del número de células.

Fase exponencial

Durante la fase exponencial, las células se encuentran en un estado de equilibrio y crecen según las ecuaciones 5 a 7. El nuevo material celular se sintetiza a una tasa constante, pero es catalítico por sí mismo y la masa incrementa de manera exponencial.

CUADRO 4-2 **Fases de la curva de crecimiento microbiano**

Fase	Tasa de crecimiento
De latencia	Cero
Exponencial	Constante
Estacionaria máxima	Cero
De declinación	Negativa (muerte)

Esto continúa hasta que se agotan uno o más nutrientes del medio o hasta que se acumulan productos metabólicos tóxicos que inhiben el crecimiento. Para los organismos aerobios, el nutriente limitante por lo general es el oxígeno. Cuando la concentración de células excede casi 1×10^7/ml, la tasa de crecimiento disminuye a menos que se agregue oxígeno al medio mediante agitación o burbujeo de aire. Cuando la concentración bacteriana alcanza 4 a 5×10^9/ml, la tasa de difusión de oxígeno no puede satisfacer la demanda incluso en un medio ventilado, y el crecimiento se lentifica de forma progresiva.

Fase estacionaria

Al final, el agotamiento de nutrientes o la acumulación de productos tóxicos interrumpen por completo el crecimiento. Sin embargo, en la mayoría de los casos el recambio celular ocurre en la fase estacionaria. Hay una pérdida lenta de células que mueren, la cual se balancea por la formación de células nuevas mediante crecimiento y división. Cuando esto ocurre, la cantidad total de células incrementa con lentitud, aunque el recuento viable permanece constante.

Fase de muerte

Después de cierto tiempo en la fase estacionaria, la viabilidad de las células comienza a disminuir a una tasa definida. Ésta varía con el tipo de organismo y con las condiciones del cultivo; la tasa de muerte incrementa hasta que alcanza un nivel equilibrado. Los aspectos matemáticos de la muerte en estado estable se discuten a continuación. En la mayoría de los casos la tasa de muerte celular es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial. Con frecuencia, después de que la mayoría de las células ha muerto, la tasa de mortalidad disminuye de forma drástica, de tal manera que un pequeño número de supervivientes puede persistir durante meses e incluso años. Esta persistencia puede en algunos casos reflejar el recambio celular, en el que unas cuantas células crecen a expensas de los nutrientes liberados de las células muertas que presentan lisis.

Se cree que un fenómeno de los cultivos bacterianos conocido como estado **viable pero no cultivable** (**VBNC**, *viable but not culturable*) es el resultado de una respuesta genética que se activa en células sin nutrientes en fase estacionaria. Justo como algunas bacterias forman esporas como un mecanismo de supervivencia, otras son capaces de permanecer inactivas sin experimentar cambios morfológicos. Cuando hay condiciones apropiadas (p. ej., al pasar a través de un animal), los microbios en estado VNBC reanudan su crecimiento.

MANTENIMIENTO DE CÉLULAS EN LA FASE EXPONENCIAL

Quimiostato

Las células pueden mantenerse en la fase exponencial si se transfieren varias veces a medios frescos idénticos mientras continúan creciendo de forma exponencial. A esto se le conoce como **cultivo continuo**; el dispositivo más utilizado para realizar este tipo de cultivos es el quimiostato. Este aparato está formado por un recipiente de cultivo equipado con un sifón de decantación y un mecanismo para abastecer medio fresco a un ritmo regulado. El medio en el recipiente de cultivo es agitado por una corriente de aire estéril; cada gota de medio fresco que entra saca una gota de medio del reservorio. El medio se prepara de tal manera que un nutriente limita el crecimiento. El recipiente se inocula y las células crecen hasta que se termina el nutriente limitante; entonces se permite que el medio fresco fluya al interior a un ritmo tal que permita que las células utilicen el nutriente limitante tan rápido como es abastecido. En estas condiciones, la concentración de células permanece constante y la tasa de crecimiento es directamente proporcional a la tasa del flujo de medio. El cultivo continuo es similar a las condiciones de los organismos que se encuentran en el mundo real (p. ej., el cuerpo humano), donde los nutrientes limitantes se reemplazan de forma constante.

CRECIMIENTO EN BIOPELÍCULAS

Ahora se sabe que muchas infecciones se producen por bacterias que no crecen de manera individual (de forma planctónica) y que se desarrollan en comunidades complejas e íntimas. Por ejemplo, es habitual desbridar los dientes todos los días para eliminar la biopelícula bacteriana que se acumula durante el sueño. De manera similar, la formación de biopelículas está relacionada con la presencia de *Streptococcus viridians* en las válvulas cardiacas, con infecciones pulmonares por *Pseudomonas aeruginosa*, con *Staphylococcus aureus* en catéteres o colonización de *Legionella pneumophila* en sistemas de agua de hospitales, por mencionar algunos ejemplos. El estudio de la formación de biopelículas bacterianas se ha convertido en un aspecto muy importante de la microbiología médica.

Las biopelículas comienzan con una sola bacteria que se incuba en una superficie y que después experimenta fisión binaria para formar una íntima comunidad (capítulo 10). Eventualmente esta entidad bacteriana se rodeará a sí misma con un glucocáliz para protegerse del ambiente y mantenerse intacta. Estos organismos producen moléculas pequeñas, como homoserina-lactonas, que absorben bacterias adyacentes y que en términos funcionales sirven como un sistema de "telecomunicación" entre los integrantes de la colonia. Este sistema le indica a bacterias individuales que activen ciertos genes en un momento específico (**percepción de quórum**). Estas señales se conocen como sensores de quórum. Con base en lo anterior, es evidente que el crecimiento bacteriano en una biopelícula no es diferente a la evolución social de animales de orden superior.

En términos conceptuales, la estrategia de la formación de una biopelícula es lógica. Promueve una mayor diversidad metabólica. Por ejemplo, las bacterias ubicadas en la periferia de la biopelícula pueden tener mayor acceso a oxígeno y otros nutrientes que los organismos del centro. Por otra parte, las células del interior están protegidas de las células inmunitarias o de los antibióticos. Las bacterias que están íntimamente adheridas pueden transferirse genes de forma eficiente, lo cual genera versatilidad fenotípica en comparación con células planctónicas. Debido a todas estas variables es difícil calcular matemáticamente el crecimiento de una biopelícula, a diferencia del crecimiento en el cultivo discontinuo. Esta es un área importante de la microbiología médica que necesita considerarse en el amplio contexto de las enfermedades infecciosas.

apter 04_Carroll_4R.indd 58 14/04/16

DEFINICIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MUERTE

Significado de muerte bacteriana

Para una célula microbiana, morir significa perder de forma irreversible la capacidad de reproducción (crecimiento y división). Excepto por los organismos en estado VBMC , la prueba empírica de muerte consiste en realizar un cultivo de células en un medio sólido: se considera que una célula está muerta si no logra originar una colonia en un medio apropiado. Es obvio, entonces, que la confiabilidad de la prueba depende de la elección del medio y de las condiciones. Por ejemplo, 99% de las células de un cultivo podría aparentar estar "muerto" por su incapacidad para formar colonias en un medio, sin embargo los mismos organismos podrían ser 100% viables si se sembraran en un medio distinto. Además, en ocasiones es imposible detectar pocas células viables en una muestra clínica grande si ésta se cultiva de forma directa, debido a que el fluido mismo del tejido es capaz de inhibir el crecimiento microbiano. En dichos casos es necesario diluir primero la muestra en un medio líquido, lo cual permite el crecimiento de células viables antes del cultivo.

Las condiciones de incubación en la primera hora posterior al tratamiento también son cruciales para determinar la muerte. Por ejemplo, si se irradian bacterias con luz ultravioleta y se colocan de inmediato en cualquier medio, podría parecer que 99.99% de las células ha sido aniquilado. Por otra parte, si primero se incuban dichos organismos en un medio adecuado durante 20 min, el cultivo puede indicar sólo la muerte de 10%. En otras palabras, la irradiación determina que una célula "morirá" si se coloca en una placa de inmediato, pero que vivirá si se le permite reparar el daño antes de ser inoculada. Una célula microbiana que no está dañada físicamente está "muerta" sólo en términos de las condiciones utilizadas para valorar su viabilidad.

Cuantificación de muerte bacteriana

Cuando se trata con microorganismos, por lo general no se cuantifica la muerte de una sola célula sino la de una población entera. Este es un problema estadístico: bajo cualquier condición que pueda provocar muerte celular, la probabilidad de que una célula muera es constante por unidad de tiempo. Por ejemplo, si se utiliza un método que provoca la muerte de 90% de las células en los primeros 10 min, la probabilidad de que cualquier célula muera en un intervalo de 10 min es 0.9. Por lo tanto, puede esperarse que 90% de las células supervivientes muera en cada intervalo sucesivo de 10 min, y es posible generar una curva de muerte. El número de células que mueren en cada inervalo de tiempo es entonces una fracción del número de sobrevivientes, de tal manera que la muerte de una población ocurre como un proceso exponencial según la siguiente fórmula general:

$$S = S_0 e^{-kt} \qquad (9)$$

en que S_0 es el número de supervivientes en el tiempo cero y S es el número de supervivientes en cualquier momento posterior *t*. Como en el caso del crecimiento exponencial, $-k$ representa la tasa de muerte exponencial cuando la fracción ln (S/S_0) se grafica contra el tiempo.

La cinética de la muerte de bacterias también es una función del número de blancos que se requiere impactar con un antibiótico particular, para eliminar a un microbio planctónico específico. Por ejemplo, un solo "impacto" podría tener como objetivo el cromosoma haploide o la membrana celular de una bacteria. En contraste, una célula que contiene muchas copias del objetivo que se quiere inactivar exhibirá una curva de múltiples impactos. Este análisis se muestra de forma gráfica en la figura 4-3.

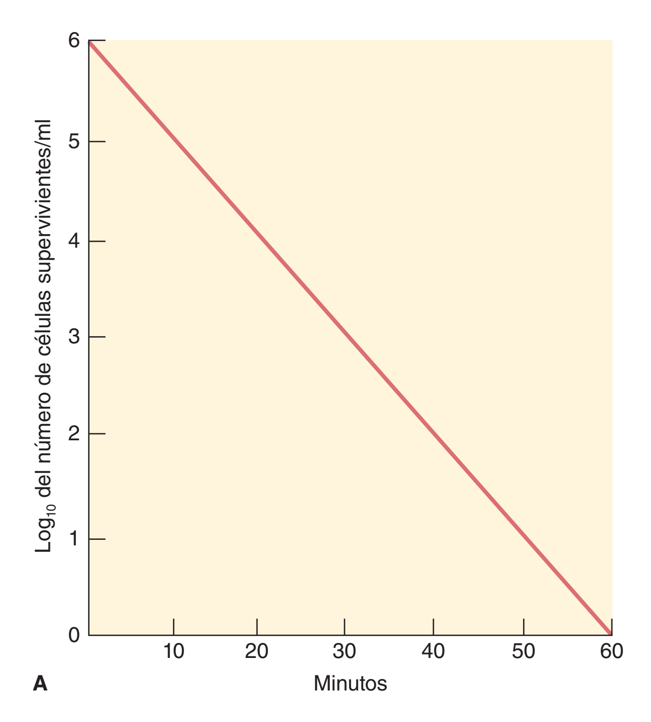
CONTROL AMBIENTAL DEL CRECIMIENTO MICROBIANO

La naturaleza robusta del crecimiento microbiano descontrolado está, de forma clara, en conflicto con la vida humana. Las especies de orden superior tienen que controlar el crecimiento de las bacterias para poder coexistir con ellas. El hombre logra esto en un contexto biológico utilizando su sistema inmunitario y la limitación de nutrientes. También aplica métodos físicos para evitar la exposición a microorganismos. Términos como **esterilización**, **desinfección**, **pasteurización** y **asepsia** deben comprenderse de forma precisa para articularlos en un sentido apropiado. En el cuadro 4-3 se enlistan estos términos y sus definiciones.

A continuación se describe un ejemplo acerca de la importancia de la comprensión de estos términos. La **esterilización** es el proceso mediante el cual se eliminan todos los organismos, incluyendo las esporas, en una preparación determinada. Entender este concepto es muy importante cuando se habla de instrumentos quirúrgicos debido a que no se desea introducir esporas en incisiones quirúrgicas. En contraste, "desinfectar" estos instrumentos puede eliminar las bacterias pero no las esporas. Por otra parte, la "limpieza" física de los instrumentos puede no remover todas las bacterias ni las esporas, sino que sólo disminuye la carga bacteriana biológica en el instrumento. La comprensión de los términos utilizados en el cuadro 4-3 es crucial para controlar el impacto ambiental de los microorganismos en el contexto de la salud humana.

ESTRATEGIAS PARA CONTROLAR LAS BACTERIAS EN EL AMBIENTE

En la microbiología médica a menudo se considera que el control de las bacterias con antibióticos es el tratamiento de referencia para tratar las infecciones humanas. Aunque esto es cierto, la medida principal consiste en evitar la exposición a agentes infecciosos. Por ejemplo, cada año ocurren cerca de 240 000 muertes en el mundo por tétanos neonatal. Por otra parte, esta enfermedad es muy rara en países desarrollados. Un factor contribuyente significativo es la incapacidad de "esterilizar" instrumentos (además de la inmunización corriente de la vacuna contra el tétanos) en muchos países del tercer mundo. Si se utilizaran medidas apropiadas en regiones poco desarrolladas, esta enfermedad podría eliminarse. Por lo tanto, es importante comprender los métodos de *esterilización, desinfección* y *pasteurización*, entre otros. Se deben comprender los



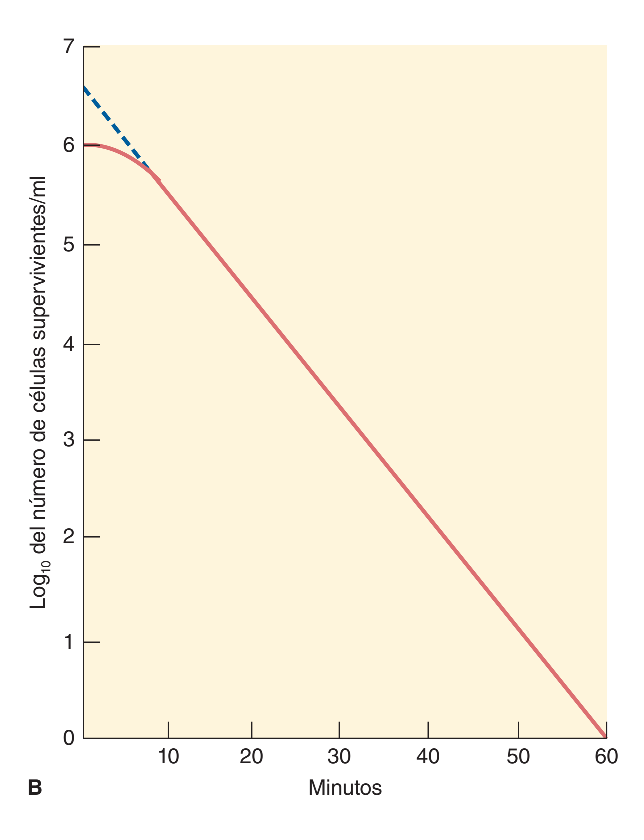


FIGURA 4-3 Curva de muerte de una suspensión con 10^6 microorganismos viables por mililitro. **A:** curva de un solo impacto. Esta gráfica es típica de la cinética de inactivación que se observa con muchos antimicrobianos. El hecho de que sea una línea recta desde el tiempo inicial (dosis nula) significa que un solo impacto del antimicrobiano es suficiente para matar a la célula (p. ej., sólo hay que dañar un blanco para inactivar al organismo). **B:** curva de impactos múltiples. Se observa cuando una célula contiene muchos blancos que inactivar. La línea recta se extrapola hasta 6.5, que corresponde a 4×10^6 células. El número de blancos es, en consecuencia, 4×10^6 o cuatro por célula.

mecanismos de acción de las técnicas para combatir infecciones; de esta manera se podrían aplicar en situaciones apropiadas. El cuadro 4-4 presenta una lista no exhaustiva de biocidas que se utilizan de forma habitual. Es importante comprender los términos **bacteriostático** y **bactericida** como se definen en el cuadro 4-4. Los mecanismos generales mediante los cuales estos biocidas logran su actividad antimicrobiana se resumen en la siguiente sección.

MECANISMOS DE ACCIÓN GENERALES DE LOS BIOCIDAS

Disrupción de la pared celular o de la membrana plasmática

La membrana celular actúa como una barrera selectiva que permite el paso a algunos solutos e impide el acceso a otros. Muchos compuestos se transportan de forma activa a través de la membrana y se concentran dentro de la célula. En la membrana también se alojan enzimas involucradas en la biosíntesis de los componentes de la envoltura celular. Las sustancias que se concentran en la superficie de la célula pueden alterar las propiedades físicas y químicas de su membrana, lo cual impide que el organismo funcione de forma normal, lo que provoca su muerte o inhibición.

La pared celular actúa como un *corsé* (o una red para pescar) que protege a la célula contra la lisis osmótica. Por lo tanto, agentes que destruyen la pared (p. ej., la lisozima, que rompe los enlaces entre los azúcares de los peptidoglucanos) o impiden su síntesis normal (p. ej., la penicilina, que interrumpe los enlaces peptídicos) pueden inducir la lisis celular.

Desnaturalización de las proteínas

Las proteínas existen en un estado plegado tridimensional que se determina en primera instancia por interacciones intramoleculares no covalentes, tales como puentes iónicos, hidrófobos y de hidrógeno o enlaces covalentes disulfuro. Esta conformación se denomina estructura terciaria. Dicho estado se altera con facilidad por un número de agentes físicos (p. ej., el calor) o químicos (p. ej., el alcohol), los cuales provocan que las proteínas pierdan su función. La disrupción de la estructura terciaria de una proteína se llama **desnaturalización proteínica**.

Disrupción de grupos sulfhidrilo libres

Las enzimas que contienen cisteína tienen cadenas laterales que terminan en grupos sulfhidrilo. Además, coenzimas como la coenzima A y el dihidrolipoato contienen grupos sulfhidrilo libres. Dichas enzimas y coenzimas no pueden funcionar a menos que los grupos sulfhidrilo permanezcan libres y reducidos. En consecuencia, los agentes oxidantes interfieren con el metabolismo al formar enlaces disulfuro entre grupos sulfhidrilo adyacentes:

$$R—SH + HS—R \xrightarrow{-2H} R—S—S—R$$

Muchos metales, como los iones de mercurio, también interfieren al combinarse con los grupos sulfhidrilo. En las

CUADRO 4-3 Algunos biocidas comunes que se utilizan para antisepsia, desinfección, preservación y otros propósitos

Agente	Fórmula	Usos
Alcoholes		Antisepsia, desinfección y preservación
Etanol	CH_3-CHOH	
Isopropanol	$(CH_3)_2CHOH$	
Aldehídos		Desinfección, esterilización y preservación
Glutaraldehído	$O=C(H)CH_2CH_2CH_2C(H)=O$	
Formaldehído	$H_2C=O$	
Biguanidas		
Clorhexidina	$Cl-C_6H_4-N(HCN)_2H(CH_2)_6N(HCN)_2H-C_6H_4-Cl$ (con =NH)	Antisepsia, actividad contra la formación de placa, preservación y desinfección
Bisfenoles		
Triclosán	Cl, Cl, OH; anillos unidos por O	Antisepsia y actividad contra la formación de placa
Hexaclorofeno	OH, OH, Cl, Cl, Cl, Cl, Cl, Cl; anillos unidos por CH_2	Desodorizante y preservación
Agentes liberadores de halógenos		Desinfección y antisepsia
Compuestos clorados	$\rightarrow OCl^-$, HOCl, Cl_2	
Compuestos yodados	$\rightarrow I_2$	
Derivados de metales pesados		
Compuestos con plata	Ag	Preservación y antisepsia
Compuestos con mercurio	Hg	Desinfección
Ácidos orgánicos		
Ácido benzoico	C_6H_5COOH	Preservación
Ácido propiónico	CH_3-CH_2-COOH	Sales de sodio o calcio que se utilizan para preservación
Peroxígenos		Desinfección y esterilización
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	
Ozono	O_3	
Ácido peracético	CH_3COOOH	
Fenoles y cresoles		Desinfección y preservación
Fenol	C_6H_5OH	
Cresol	OH, CH_3 (anillo bencénico)	

(*continúa*)

CUADRO 4-3 Algunos biocidas comunes que se utilizan para antisepsia, desinfección, preservación y otros propósitos (*continuación*)

Agente	Fórmula	Usos
Compuestos de amonio cuaternario	$[N R^1 R^2 R^3 R^4]^+ X^-$	Desinfección, antisepsia y preservación
Cetrimida	$[(H_3C)_3 N C_nH_{2n+1}]^+ Br^-$	Desinfección, antisepsia y preservación
Cloruro de benzalconio	$[C_6H_{11}-CH_2 N (CH_3)(H_3C) C_nH_{2n+1}]^+ Cl^-$	
Fase de vapor Óxido de etileno	$H_2C(O)CH_2$	Esterilización y desinfección
Formaldehído	$H-C(H)=O$	
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	

células hay enzimas portadoras de grupos sulfhidrilo y por lo tanto los agentes oxidantes y los metales pesados generan daño.

Daño al DNA

Un número de agentes físicos y químicos actúan dañando el ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*); entre éstos se encuentran las radiaciones ionizantes, la luz ultravioleta y las sustancias químicas que reaccionan con el DNA. En la última categoría están los agentes alquilantes y otros compuestos que reaccionan de manera covalente con las purinas y las pirimidinas para formar compuestos de DNA o enlaces cruzados entre las cadenas. La radiación puede dañar al DNA de muchas maneras; la luz ultravioleta, por ejemplo, induce entrecruzamiento entre pirimidinas adyacentes que permite la formación de dímeros pirimídicos, ya sea en una de las cadenas o entre ambas; las radiaciones ionizantes producen roturas en cadenas individuales o en moléculas bicatenarias. Las lesiones del DNA inducidas por radiaciones o por medios químicos matan a las células en primera instancia al interferir con la replicación del DNA. En el capítulo 7 se revisan los sistemas de reparación del DNA.

Antagonismo químico

El **antagonismo químico** ocurre cuando un agente interfiere en la reacción normal entre una enzima específica y su sustrato. El **agonista** actúa al combinarse con alguna parte de la holoenzima (la apoenzima [región proteínica de la holoenzima], el activador mineral o la coenzima), con lo que se impide la adhesión del sustrato normal. En este caso el término sustrato se utiliza en sentido general para incluir casos en los que el inhibidor se combina con la apoenzima, impidiendo de esta manera la adhesión a la coenzima.

Un antagonista se combina con una enzima gracias a su afinidad química por un sitio esencial en la última. Las enzimas realizan su función catalítica por su afinidad a sus sustratos naturales; por lo tanto un compuesto que se asemeja a un sustrato en términos estructurales esenciales también puede tener afinidad por la enzima. Si esta afinidad es lo suficientemente grande, el "análogo" desplazará al sustrato normal e impedirá que ocurra la reacción adecuada.

Muchas holoenzimas incluyen un ion mineral que actúa como puente entre la enzima y la coenzima o entre la enzima y el sustrato. Los agentes químicos que se combinan con facilidad con estos minerales impiden la adhesión de la coenzima o del sustrato (p. ej., el monóxido de carbono y el cianuro se combinan con el átomo de hierro de las enzimas que contienen grupos hemo e impiden su función en el proceso de la respiración).

Los antagonistas químicos pueden dividirse en: a) antagonistas de procesos generadores de energía y b) antagonistas de procesos biosintéticos. Los primeros incluyen venenos que afectan a enzimas respiratorias (monóxido de carbono y cianuro) y la fosforilación oxidativa (dinitrofenol). Los últimos

comprenden a análogos de aminoácidos y de ácidos nucleicos. En algunas situaciones, el análogo sólo evita la incorporación del metabolito normal (p. ej., el 5-metiltriptófano impide la anexión de triptófano en las proteínas) y en otros casos el análogo remplaza al metabolito normal en la macromolécula y la inactiva. La incorporación de *p*-fluorofenilalanina en lugar de fenilalanina en las proteínas es un ejemplo del último tipo de antagonismo.

ACCIONES ESPECÍFICAS DE BIOCIDAS SELECTOS

En las siguientes secciones se describen importantes agentes físicos y químicos selectos.

Métodos físicos

A. Calor

La aplicación de calor es el medio más simple para esterilizar materiales, dado que estos son resistentes. Una temperatura de 100 °C matará a todas las eubacterias (sin incluir sus esporas) en 2 a 3 min en cultivos de laboratorio; una temperatura de 121 °C durante 15 min matará las esporas. Por lo general, se utiliza vapor porque las bacterias mueren con mayor rapidez cuando se humedecen y debido a que el vapor distribuye el calor en todas las áreas del material a esterilizar. A nivel del mar, el vapor debe conservarse a una presión de 15 lb/pulgada cuadrada (psi, *pounds per square inch*) sobre la presión atmosférica para obtener una temperatura de 121 °C; las autoclaves o las ollas de presión se utilizan con estos fines. En altitudes mayores, la presión necesitará ser mayor a 15 psi para alcanzar 121 °C. Para esterilizar materiales que deben permanecer secos se utilizan hornos eléctricos que hacen circular aire caliente; puesto que el calor es menos efectivo en materiales secos, se acostumbra aplicar una temperatura de 160 a 170 °C durante 1 h o más. Bajo estas condiciones (p. ej., temperaturas excesivas aplicadas durante periodos largos), el calor desnaturaliza proteínas y ácidos nucleicos y rompe las membranas celulares. Este tratamiento, si se realiza de forma adecuada, es esporicida.

B. Radiación

La radiación ultravioleta (UV) con una longitud de onda cercana a 260 nm genera dímeros de timidina que impiden la replicación del DNA bacteriano. Por lo general es bactericida pero no esporicida.

La radiación ionizante de 1 nm o menos (rayos X o gamma) provoca la formación de radicales libres que dañan proteínas, DNA y lípidos. Estos tratamientos son bactericidas y esporicidas.

C. Agentes químicos

En el cuadro 4-4 se muestran las estructuras químicas y las aplicaciones de los biocidas; las actividades selectivas de éstos se describen en las siguientes secciones.

CUADRO 4-4 Términos comunes relacionados con el control microbiano

Término	Definición
Esterilización	Proceso que destruye o elimina de un objeto o ambiente todas las formas de vida microbiana, incluyendo esporas bacterianas muy resistentes
Desinfección	Proceso que elimina de un objeto o ambiente gran parte, o la totalidad, de los microorganismos patógenos (excepto esporas bacterianas)
Pasteurización	Método que consiste en aplicar calor, por lo general a productos lácteos, durante un periodo específico para matar o retrasar el desarrollo de bacterias patógenas
Saneamiento	Reducción de la presencia de patógenos a niveles inocuos en objetos inanimados para disminuir la probabilidad de infección cruzada
Limpieza	Remoción de suciedad (p. ej., material orgánico e inorgánico) de objetos y superficies, que se logra por lo general de forma manual o mecánica utilizando agua con detergentes o productos enzimáticos
Biocida	Agente químico o físico, por lo común de amplio espectro, que inactiva organismos
Bactericida	Término específico que se refiere a la propiedad mediante la cual un biocida es capaz de matar bacterias. La acción bactericida es irreversible, a diferencia del efecto bacteriostático (p. ej., los organismos que han muerto por exposición a un bactericida ya no pueden reproducirse incluso después de interrumpir el contacto con el agente). En ocasiones la sustancia provoca lisis (disolución) de las células; en otros casos las células permanecen intactas e incluso pueden seguir siendo metabólicamente activas (los términos **fungicida, esporicida** y **viricida** se refieren a la capacidad que tienen los biocidas para matar hongos, esporas y virus, respectivamente)
Bacteriostático	Término específico que se refiere a la propiedad mediante la cual un biocida es capaz de inhibir la multiplicación de las bacterias; al remover el agente, la reproducción reinicia. (Los términos **fungistático** y **esporostático** se refieren a los biocidas que inhiben el crecimiento de hongos y esporas, en dicho orden)
Séptico	Estado que se caracteriza por la presencia de microbios patógenos en tejidos vivos o en fluidos relacionados
Aséptico	Material libre de microorganismos o método para evitar el crecimiento de patógenos
Antiséptico	Agente que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos en tejidos vivos o fluidos biológicos
Preservativo	Sustancia que se agrega a productos alimenticios o a soluciones orgánicas para prevenir cambios químicos o la acción de bacterias
Antibiótico	Sustancia que interfiere con un paso particular del metabolismo celular; puede ser bactericida o bacteriostático

D. Alcoholes

Estos agentes remueven de manera efectiva el agua de los sistemas biológicos. Por lo tanto, en términos funcionales, actúan como "desecantes líquidos". El alcohol etílico, el alcohol isopropílico y el *n*-propanol tienen un espectro rápido y amplio de actividad antimicrobiana contra bacterias vegetativas, virus y hongos, pero no son esporicidas. Su actividad es óptima cuando se diluyen con agua hasta una concentración de 60 a 90%. Por lo general, esta estrategia terapéutica se considera bactericida pero no esporicida.

E. Aldehídos

Compuestos como el glutaraldehído o el formaldehído se utilizan para desinfectar y esterilizar instrumentos, endoscopios y herramientas quirúrgicas a baja temperatura. Por lo general, se aplican en forma de solución al 2% para lograr una actividad esporicida. Estos compuestos por lo común son bactericidas y esporicidas.

F. Biguanidas

La clorhexidina se utiliza de forma regular en productos para higiene oral y para el lavado de manos, como desinfectante y preservativo. Estos compuestos son bactericidas pero no esporicidas. En general las micobacterias son muy resistentes a estos compuestos, gracias a su envoltura celular cerosa única.

G. Bisfenoles

Los bisfenoles se utilizan en jabones antisépticos y enjuagues para manos. En general tienen actividad microbicida de amplio espectro pero su efecto es limitado contra *Pseudomonas aeruginosa* y mohos. El triclosán y el hexaclorofeno son bactericidas y esporostáticos (no esporicidas).

H. Agentes liberadores de halógenos

Los tipos más importantes de agentes liberadores de cloro son el hipoclorito de sodio, el dióxido de cloro y el dicloroisocianurato sódico, los cuales son moléculas oxidantes que impiden la actividad celular de las proteínas. El ácido hipocloroso es el compuesto activo responsable del efecto bactericida de estos compuestos. En concentraciones más altas, este grupo es esporicida. El yodo (I_2) es un bactericida y esporicida de acción rápida. Los yodóforos (p. ej., la povidona yodada) son complejos de yodo y un agente portador o para disolución, que actúa como reservorio del I_2 activo.

I. Derivados de metales pesados

La sulfadiazina de plata (Ag^+) (una combinación de dos agentes bactericidas, Ag^+ y sulfadiazina) tiene un espectro de actividad amplio. La unión a componentes celulares como el DNA es responsable de sus propiedades inhibitorias. Estos compuestos no son esporicidas.

J. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos se usan como conservadores en las industrias farmacéutica y alimentaria. El ácido benzoico es fungistático, mientras que el ácido propiónico es bacteriostático y fungistático. Ninguno es esporicida.

K. Peroxígenos

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) tiene una actividad de amplio espectro contra virus, bacterias, levaduras y esporas bacterianas. La actividad esporicida requiere de concentraciones mayores (de 10 a 30%) de H_2O_2 y un tiempo de contacto más prolongado.

L. Fenoles

El fenol y los compuestos fenólicos tienen propiedades antisépticas, desinfectantes o preservativas. En general, no son esporicidas.

M. Compuestos de amonio cuaternario

Estos compuestos tienen dos regiones en sus estructuras moleculares, un grupo que repele el agua (hidrófobo) y otro que es afín a ésta (hidrófilo). Los detergentes catiónicos, como los compuestos de amonio cuaternario (QAC, *quaternary ammonium compounds*), son antisépticos y desinfectantes eficientes. Los QAC se utilizan para una gran variedad de propósitos clínicos (p. ej., para desinfectar la piel antes de una intervención quirúrgica) y para limpiar superficies duras. Son esporostáticos; inhiben el crecimiento de esporas pero no el proceso de germinación. Los QAC actúan sobre virus con envoltura, pero no afectan a los que carecen de ella. En general, estos compuestos no son esporicidas.

N. Esterilizadores con fase de vapor

Los dispositivos médicos y los instrumentos quirúrgicos sensibles al calor pueden esterilizarse de manera efectiva empleando sistemas con fase de vapor que utilizan óxido de etileno, formaldehído, peróxido de hidrógeno o ácido peracético. Éstos son esporicidas.

RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE BIOCIDA Y EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN EN LA ELIMINACIÓN DE MICROBIOS

Cuando se utilizan los biocidas antes descritos para eliminar poblaciones microbianas, hay que considerar las variables de tiempo y concentración. A menudo se observa que la concentración de la sustancia utilizada está relacionada con el tiempo requerido para matar una fracción determinada de la población, lo cual corresponde a la siguiente expresión:

$$C^n t = K \qquad (10)$$

En esta ecuación, C es la concentración de biocida, t es el tiempo necesario para matar a una fracción determinada de las células y n y K son constantes.

Con base en esta ecuación se concluye, por ejemplo, que si un desinfectante tiene un valor de $n = 6$ (como en el caso del fenol), duplicar la concentración del agente reducirá 64 veces el tiempo necesario para lograr la misma extensión de inactivación. El hecho de que la eficacia de un biocida varíe con la concentración a la sexta potencia sugiere que son necesarias

seis moléculas del agente para inactivar a una célula, aunque no hay evidencia química directa que sustente esta conclusión.

Para determinar el valor de n de cualquier biocida hay que realizar curvas de inactivación individuales para muchas concentraciones. De esta manera se determina el tiempo requerido para inactivar una fracción fija de la población con cada concentración. Por ejemplo, supóngase que C_1 es la primera concentración y t_1 es el tiempo necesario para inactivar a 99% de las células de una población. De manera similar, asúmase que C_2 y t_2 son la segunda concentración y el tiempo requerido para lograr el mismo efecto (respectivamente). Utilizando la ecuación 10, se observa que:

$$C_1^n\, t_1 = C_2^n\, t_2 \tag{11}$$

Si se despeja n se obtiene:

$$n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2} \tag{12}$$

Por lo tanto, n puede determinarse midiendo la pendiente de la línea que resulta cuando se grafica el logaritmo de t contra el logaritmo de C (figura 4-4). Si el valor de n se obtiene de esta manera, K puede determinarse sustituyendo los valores observados para C t, y n en la ecuación 10.

CUADRO 4-5 Ejemplos de mecanismos capaces de revertir la actividad de los biocidas

Mecanismo	Ejemplo
Remoción del agente	Cuando se separan células inhibidas de un agente bacteriostático mediante lavado o centrifugación, éstas se vuelven a multiplicar de manera normal.
Competencia por los sustratos	Cuando un antagonista químico de tipo análogo se une de forma reversible a una enzima, es posible desplazarlo agregando una concentración elevada del sustrato normal. A esto se le llama **inhibición competitiva**. La proporción entre la concentración del inhibidor y la concentración del sustrato que revierte la inhibición se denomina **índice microbiano**; por lo general es muy alto (100-10 000), lo cual indica una afinidad mucho mayor de la enzima por el análogo que por su sustrato normal.
Inactivación del agente	A menudo es posible inactivar un agente agregando al medio una sustancia que se combine con él, impidiendo así su combinación con constituyentes celulares. Por ejemplo, los iones de mercurio se pueden inactivar agregando al medio compuestos con grupos sulfhidrilo, como el ácido tioglicólico.

Reversión de la actividad de los biocidas

Además de la cinética dependiente del tiempo y de la concentración, otro aspecto importante de la actividad biocida es la capacidad de revertir el efecto antimicrobiano. En el cuadro 4-5 se resumen los mecanismos que pueden revertir la actividad de los biocidas. Éstos incluyen la remoción del agente, competición por el sustrato y la inactivación del biocida. La neutralización de estas sustancias debe considerarse como parte de la estrategia de esterilización/desinfección.

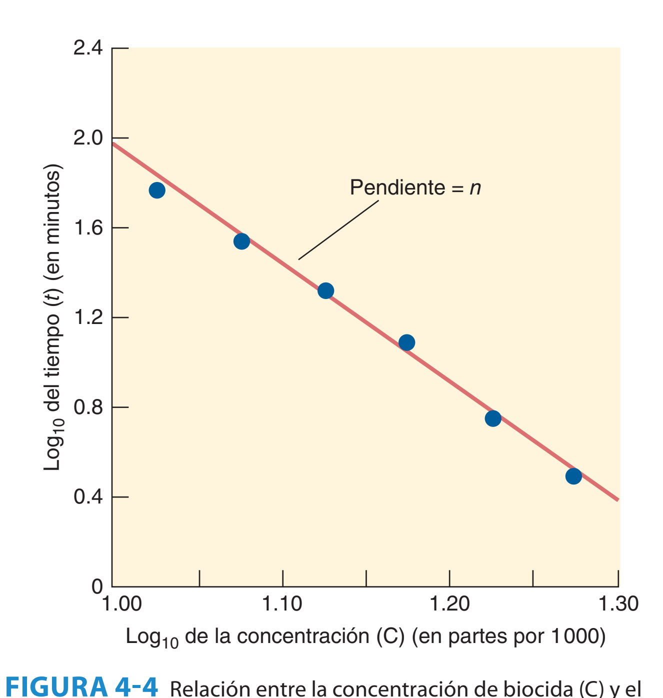


FIGURA 4-4 Relación entre la concentración de biocida (C) y el tiempo (t) necesario para matar una fracción determinada de una población de células.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

Apreciar el crecimiento y la muerte de las bacterias es fundamental para entender la interacción compleja que existe entre bacterias patógenas y sus hospedadores. Si un sistema inmunitario intacto y la limitación de nutrientes no restringen el crecimiento logarítmico de las bacterias, éstas vencerán con rapidez al hospedador en la lucha por el alimento. El control ambiental del crecimiento microbiano con biocidas limita la exposición a microorganismos potencialmente patógenos. Los métodos de esterilización, desinfección y pasteurización, entre otros, son fundamentales en el control de bacterias y en consecuencia para preservar la salud humana. Al final, comprender el crecimiento y la muerte microbianos es el primer paso hacia el control efectivo de las enfermedades infecciosas.

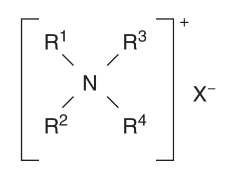
VERIFICACIÓN DE CONCEPTOS

1. En los seres humanos, las bacterias se encuentran como biosistemas complejos conocidos como microbiota.
2. Para cuantificar células bacterianas se utilizan el recuento de células viables, la turbidez y la biomasa.
3. La biomasa y el tiempo de generación están relacionados de forma matemática.

4. Inocular una sola colonia bacteriana en un volumen fijo de medio líquido se conoce como cultivo discontinuo. En este sistema, el crecimiento bacteriano exhibe cuatro fases (de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte).
5. Algunas bacterias existen en un estado que se define como viable pero no cultivable.
6. El crecimiento en cultivo continuo o en forma de biopelícula se asemeja más al crecimiento bacteriano dentro de un hospedador humano.
7. La esterilización, la desinfección y la pasteurización, así como otros términos (cuadro 4-3), son esenciales para comprender y comunicar la ciencia de la microbiología.
8. Es importante entender y conocer las estructuras generales y los mecanismos de acción de los biocidas (cuadro 4-4).
9. Dependiendo de los mecanismos de acción, biocidas diferentes son bacteriostáticos, bactericidas o esporicidas.
10. La actividad biocida depende del tiempo y de la concentración. Este efecto puede revertirse por remoción del agente, competencia por los sustratos e inactivación del biocida.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 23 años de edad tiene 10 bacterias *Escherichia coli* inoculadas en la vejiga por tener relaciones sexuales. El tiempo de generación de este organismo es de 20 min. Después de un periodo de latencia de 20 min, las bacterias entran a la fase logarítmica de crecimiento. Después de 3 h de crecimiento logarítmico, el número total de células es:
   (A) 2 560
   (B) 5 012
   (C) 90
   (D) 1 028
   (E) 1 000 000
2. Una mujer de 73 años de edad está hospitalizada para tratamiento intravenoso de un absceso causado por *Staphylococcus aureus*. Después de ser tratada y dada de alta del hospital, es necesario desinfectar el cuarto. Mil células de *S. aureus* son expuestas al desinfectante. Después de 10 min, 90% de las células es eliminado. ¿Cuántos organismos continúan siendo viables después de 20 min?
   (A) 500
   (B) 100
   (C) 10
   (D) 1
   (E) 0
3. ¿La acción de cuál de los siguientes antibióticos o qué procesos pueden revertirse en bacterias que no forman esporas?
   (A) Un desinfectante
   (B) Un agente bactericida
   (C) Un agente bacteriostático
   (D) Esterilización en autoclave a 121 °C durante 15 min
   (E) Aplicación de calor seco a una temperatura de 160 a 170 °C durante 1 h
4. La tasa de crecimiento bacteriano durante la fase exponencial de crecimiento
   (A) Es igual a cero
   (B) Incrementa
   (C) Es constante
   (D) Disminuye
   (E) Es negativa
5. Un médico obtiene una muestra de esputo de un paciente con tuberculosis. La muestra contiene una célula viable de *Mycobacterium tuberculosis*, un organismo con un tiempo de duplicación (lento) *in vitro* de 48 h que corresponde a una constante de la tasa de crecimiento *in vitro* (κ) de 0.04 h^{-1}. Calculando que la biomasa de este único organismo es 2.3×10^{-13} g y asumiendo que esta célula entra de inmediato a la fase de crecimiento logarítmico, ¿cuántas horas se necesitarán para que produzca 10^{-6} g de biomasa?
   (A) 4 h
   (B) 40 h
   (C) 400 h
   (D) 4 000 h
   (E) 40 000 h
6. Una muestra de leche pasteurizada de cabra se cultiva para identificar la presencia de *Brucella melitensis*, un organismo que se sabe que infectó animales en una granja adyacente. Se declara que el consumo de esta leche es inocuo; sin embargo, algunas de las personas que la ingirieron desarrollaron brucelosis. ¿Cuál de las siguientes opciones explica de manera más precisa la disparidad entre los resultados del cultivo y la enfermedad de los pacientes?
   (A) Las bacterias de la leche eran viables pero no cultivables
   (B) Pasteurización incompleta de la leche
   (C) Los organismos de la leche se encontraban en la fase de latencia cuando se hizo el examen
   (D) La leche tenía un nivel elevado de un antibiótico bactericida cuando se analizó
   (E) Hubo contaminación de la leche después de la prueba
7. Un médico misionero al trabajar en áreas rurales de India roció el ombligo de un recién nacido con una solución, con la estructura química de la figura que se muestra abajo, para evitar una infección de tétanos. ¿A qué clase de agente químico pertenece esta estructura?



   (A) Alcohol
   (B) Aldehído
   (C) Bisfenol
   (D) Peroxígeno
   (E) Amonio cuaternario
8. Para esterilizar algunos instrumentos quirúrgicos ¿cuál de los siguientes agentes debería utilizarse?
   (A) Ácido benzoico (2%)
   (B) Alcohol isopropílico (2%)
   (C) Glutaraldehído (2%)
   (D) Peróxido de hidrógeno (2%)
   (E) Compuesto de amonio cuaternario (2%)
9. La tasa de crecimiento bacteriano durante la fase estacionaria máxima de crecimiento
   (A) Es igual a cero
   (B) Incrementa
   (C) Es constante
   (D) Disminuye
   (E) Es negativa

10. Los agentes químicos pueden interferir con la reacción normal entre una enzima específica y su sustrato (antagonismo químico). ¿Cuál de las siguientes moléculas inhibe los procesos celulares generadores de energía?

    (A) 5-metiltriptófano
    (B) Cianuro
    (C) Peróxido de hidrógeno
    (D) Etanol
    (E) Lisozima

11. ¿Cuál de los siguientes organismos es el más resistente a la destrucción por agentes químicos y calor?

    (A) Esporas de *Aspergillus fumigatus*
    (B) Mycobacterium tuberculosis
    (C) El virus del Ébola
    (D) Escherichia coli
    (E) Esporas de *Bacillus anthracis*

Respuestas

1. A	7. E
2. C	8. C
3. C	9. A
4. C	10. B
5. C	11. E
6. A	

BIBLIOGRAFÍA

Barcina I, Arana I: The viable but nonculturable phenotype: a crossroads in the life-cycle of non-differentiating bacteria? *Rev Environ Sci Biotechnol* 2009;8:245-255.

Block SS (editor): *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. American Society for Microbiology Press, 2000.

Gerhardt P, *et al.* (editors): *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, 1981.

Hans-Curt F, Jost W: The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:623-633.

McDonnell GE: *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization: Types, Action, and Resistance*. American Society for Microbiology Press, 2007.

McDonnell G, Russell AD: Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147.

Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (editors): *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 3a. ed. Blackwell Scientific Publications, 1999.

Rutala WA, Weber DJ, Health Care Practices Advisory Committee: *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008*. Centers for Disease Control and Prevention, 2008. http://www.cdc.gov/hicpac/Disinfection_Sterilization/acknowledg.html

Siegels DA, Kolter R: Life after log. *J Bacteriol* 1992;174:345.



apter 04_Carroll_4R.indd 68 14/04/16

CAPÍTULO

5

Cultivo de microorganismos

El cultivo es el proceso de proliferación de microorganismos al proporcionarles un entorno apropiado. Los microorganismos en proliferación producen réplicas de sí mismos y necesitan los elementos presentes en su composición química. Los nutrientes deben proporcionar estos elementos en una forma que sea accesible desde el punto de vista metabólico. Además, los microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y mantener gradientes químicos esenciales a través de sus membranas. Los factores que deben controlarse durante la proliferación incluyen nutrientes, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y fuerza iónica del medio.

NECESIDADES PARA EL CRECIMIENTO

La mayor parte del peso seco de los microorganismos es materia orgánica que contiene elementos como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. Además, se necesitan iones inorgánicos como potasio, sodio, hierro, magnesio, calcio y cloruro para facilitar los procesos enzimáticos y mantener los gradientes químicos a través de la membrana celular.

En su mayor parte, la materia orgánica consiste en macromoléculas formadas por **enlaces anhidro** entre los bloques de construcción. La síntesis de enlaces anhidro requiere energía química, que es proporcionada por dos enlaces fosfodiéster contenidos en el trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate* [capítulo 6]). La energía adicional necesaria para mantener la composición citoplásmica relativamente constante durante la proliferación se deriva de la **fuerza motriz protónica**, que consiste en energía potencial que puede derivarse del paso de protones a través de una membrana. En células eucariotas, la membrana puede ser parte de las mitocondrias o de los cloroplastos. En células procariotas, la membrana corresponde a la membrana citoplásmica de la célula.

La fuerza motriz protónica es un gradiente electroquímico con dos componentes: una diferencia en pH (concentración de iones de hidrógeno) y diferencia en la carga iónica. La carga en el exterior de la membrana bacteriana es más positiva que en el interior, y la diferencia en las cargas contribuye a la liberación de energía libre cuando un protón entra al citoplasma desde fuera de la membrana. El proceso metabólico que genera la fuerza motriz protónica se revisa en el capítulo 6. La energía libre puede utilizarse para el desplazamiento de la célula, para mantener los gradientes iónicos o moleculares a través de la membrana, para sintetizar enlaces anhidro en el ATP o para diversos propósitos combinados. Asimismo, la célula puede utilizar una fuente de ATP con sus enlaces anhidro de energía para crear una fuerza motriz protónica que a su vez puede utilizarse para desplazar la célula y conservar los gradientes químicos.

Para su desarrollo, un microorganismo requiere todos los elementos en su materia orgánica y cantidades adecuadas de iones para la producción de energía y reacciones catalíticas. Además, debe haber una fuente de energía para establecer la fuerza motriz protónica y permitir la síntesis de macromoléculas. Los microorganismos varían de manera amplia en sus demandas nutricionales y sus fuentes de energía metabólica.

FUENTES DE ENERGÍA METABÓLICA

Los tres mecanismos principales para la generación de energía metabólica son **fermentación**, **respiración** y **fotosíntesis**. Para el desarrollo del microorganismo debe utilizarse al menos uno de estos mecanismos.

Fermentación

La formación de ATP en la fermentación no se acopla con la transferencia de electrones. La fermentación se caracteriza por la **fosforilación del sustrato**, un proceso enzimático en el cual los enlaces de pirofosfato se donan directamente al difosfato de adenosina (ADP, *adenosine diphosphate*) por un intermediario metabólico fosforilado. El intermediario fosforilado se forma por procesos metabólicos de sustrato susceptibles de fermentación como la glucosa, lactosa o arginina. La fermentación no se acompaña de cambios en el estado general de oxidación-reducción del sustrato fermentable y por lo tanto la composición elemental de los productos de fermentación debe ser idéntica a la de los sustratos. Por ejemplo, la fermentación de una molécula de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) por la vía de Embden-Meyerhof (capítulo 6) produce una ganancia neta de dos enlaces de pirofosfato en el ATP y produce dos moléculas de ácido láctico ($C_3H_6O_3$).

Respiración

La respiración es análoga a los procesos de acoplamiento dependientes de energía para descargar una batería. La reducción química de un oxidante (aceptor de electrones) a través de una serie específica de transportadores de electrones en la membrana establece la fuerza motriz protónica a través de la membrana bacteriana. El reductor (donador de electrones) puede ser un compuesto orgánico o inorgánico (p. ej., el ácido láctico actúa como reductor en algunos microorganismos, en tanto que el gas hidrógeno es reductor para otros). A menudo se utiliza oxígeno gaseoso (O_2) como oxidante, pero algunos

apter 05_Carroll_4R.indd 69 14/04/16

microorganismos pueden utilizar oxidantes alternativos como dióxido de carbono (CO_2), sulfato (SO_4^{2-}) y nitrato (NO_3^-).

Fotosíntesis

La fotosíntesis es similar a la respiración en el sentido de que la reducción de un oxidante a través de una serie específica de transportadores de electrones establece una fuerza motriz protónica. La diferencia en los dos procesos consiste en que en la fotosíntesis se crean el reductor y el oxidante por técnicas fotoquímicas por medio de energía luminosa absorbida por los pigmentos en la membrana; así, la fotosíntesis continúa en tanto exista una fuente de energía luminosa. Las plantas y algunas bacterias son capaces de invertir cantidades sustanciales de energía luminosa para hacer del agua un reductor para el dióxido de carbono. El oxígeno participa en este proceso y se produce materia orgánica. La respiración, la oxidación favorable desde el punto de vista energético de la materia orgánica por un aceptor de electrones como el oxígeno, puede proporcionar a los microorganismos con capacidad de fotosíntesis energía en ausencia de una fuente luminosa.

NUTRICIÓN

La nutrición en medios de cultivo debe contener todos los elementos necesarios para la síntesis biológica de un nuevo microorganismo. En los siguientes párrafos, se muestra una clasificación de los nutrientes con base en los elementos que proporcionan.

Fuentes de carbono

Como se mencionó antes, las plantas y algunas bacterias son capaces de utilizar energía de fotosíntesis para reducir el dióxido de carbono a expensas del agua. Estos microorganismos pertenecen al grupo de microorganismos **autótrofos**, seres vivos que no necesitan nutrientes orgánicos para su desarrollo. Otros microorganismos autótrofos son los **quimiolitótrofos**, que utilizan sustratos inorgánicos como hidrógeno y tiosulfato como reductor y dióxido de carbono como fuente de carbono.

Los microorganismos **heterótrofos** requieren carbono orgánico para su desarrollo; éste debe encontrarse en una forma que puedan asimilar. Por ejemplo, el naftaleno proporciona todo el carbón y energía necesarios para el desarrollo de microorganismos heterótrofos respiratorios, pero muy pocos microorganismos poseen la vía metabólica necesaria para la asimilación de naftaleno. Por otra parte, la glucosa puede sustentar el desarrollo mediante procesos de respiración o fermentación en muchos microorganismos. Es importante que los sustratos de crecimiento se suministren a niveles apropiados para la cepa microbiana que se está cultivando: las concentraciones que sostienen el desarrollo del microorganismo pueden inhibir el desarrollo de otro.

El dióxido de carbono es necesario para varias reacciones biosintéticas. Muchos microorganismos respiratorios producen más del dióxido de carbono necesario para satisfacer sus necesidades, en tanto que otros requieren fuentes de dióxido de carbono en su medio de cultivo.

Fuentes de nitrógeno

El nitrógeno es un constituyente importante de las proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos, y constituye casi 5% del peso seco de una bacteria típica. El nitrógeno inorgánico molecular (N_2), es muy prevalente pues constituye casi 80% de la atmósfera terrestre. Es un compuesto muy estable, principalmente porque se requieren altas cantidades de energía de activación para romper su triple enlace entre ambos átomos de nitrógeno. Sin embargo, éste puede proporcionarse en diversas formas y los microorganismos varían en cuanto a su capacidad para asimilarlo (cuadro 5-1). El producto terminal de todas las vías para la asimilación de nitrógeno es la forma más reducida del elemento, el amoniaco (NH_3). Cuando se cuenta con NH_3, se difunde hacia el interior de la mayor parte de las bacterias a través de conductos transmembrana como gas disuelto NH_3^+ en lugar de formar ion amonio (NH_4^+).

La capacidad de asimilar N_2 en forma reducida como NH_3, proceso denominado **fijación de nitrógeno**, es una propiedad singular de las células procariotas y muy pocas bacterias son capaces de desdoblar el triple enlace entre ambos átomos de nitrógeno. Este proceso (capítulo 6) necesita grandes cantidades de energía metabólica y se desactiva con facilidad por el oxígeno. La capacidad de fijación de nitrógeno se encuentra en bacterias muy divergentes que han evolucionado con estrategias bioquímicas bastante diferentes para proteger sus enzimas fijadoras de nitrógeno de la exposición con el oxígeno.

La mayor parte de los microorganismos pueden utilizar NH_3 como única fuente de nitrógeno; muchos microorganismos poseen la capacidad de producir NH_3 a partir de aminas ($R—NH_2$) o a partir de aminoácidos ($RCHNH_2COOH$), por lo común en el interior de la célula. La producción de NH_3 por desaminación de aminoácidos se denomina **amonificación**. El amoniaco se introduce en la materia orgánica por vías bioquímicas que incluyen al glutamato y glutamina. Estas vías se revisan en el capítulo 6.

Muchos microorganismos poseen la capacidad de asimilar nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) mediante la conversión de estos iones en NH_3. Tales procesos se conocen como **reducción de nitratos por asimilación** y **reducción de nitritos por asimilación**, de manera respectiva. Estas vías para la asimilación difieren de las vías utilizadas para **catabolizar** nitratos y nitritos. Las vías catabólicas utilizadas por microorganismos emplean estos iones como aceptores terminales de electrones en la respiración. Algunas bacterias autótrofas (p. ej., *Nitrosomonas, Nitrobacter*) son capaces de convertir NH_3 a N_2 gaseoso bajo condiciones anaerobias; este proceso se conoce como **desnitrificación**.

CUADRO 5-1 Fuentes de nitrógeno en la nutrición microbiana

Compuesto	Valencia del nitrógeno
NO_3^-	+5
NO_2^-	+3
N_2	0
NH_4^+	−3
$R-NH_2$[a]	−3

[a]R, radical orgánico.

Continúa en evolución la comprensión del ciclo del nitrógeno. A mediados del decenio de 1990 se descubrió la reacción de oxidación anaerobia del ion amonio (**anammox**). La reacción

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$$

en la cual un nitrito oxida al amoniaco, es un proceso microbiano que ocurre en aguas anóxicas en el océano y es la principal vía por la cual regresa el nitrógeno hacia la atmósfera.

Fuentes de azufre

Al igual que el nitrógeno, el azufre es un componente de muchas sustancias orgánicas de las células. Forma parte de la estructura de varias coenzimas y se encuentra en las cadenas laterales de cisteinil y metionil de las proteínas. Las plantas o animales no pueden utilizar el azufre en su forma elemental. Sin embargo, algunas bacterias autótrofas pueden oxidarse a su forma de sulfato (SO_4^{2-}). La mayor parte de los microorganismos pueden utilizar sulfato como fuente de azufre, al reducir el sulfato al nivel de ácido sulfhídrico (H_2S). Algunos microorganismos pueden asimilar H_2S de manera directa del medio de cultivo, pero este compuesto puede ser tóxico para muchos de ellos.

Fuentes de fósforo

El fosfato (PO_4^{3-}) es necesario como componente del ATP, ácidos nucleicos y coenzimas como NAD, NADP y flavinas. Además, muchos metabolitos, lípidos (fosfolípidos, lípido A), componentes de las paredes celulares (ácido teicoico), algunos polisacáridos capsulares y algunas proteínas sufren fosforilación. El fosfato siempre se asimila en forma de fosfato inorgánico libre (P_i).

Fuentes de minerales

Se necesitan numerosos minerales para la función de las enzimas. El magnesio (Mg^{2+}) y el ion ferroso (Fe^{2+}) también se encuentran en derivados de porfirina: el magnesio en las moléculas de clorofila, el hierro como parte de las coenzimas de los citocromos y peroxidasas. Mg^{2+} y K^+ son esenciales para la función e integridad de los ribosomas. El calcio es necesario como constituyente de las paredes celulares de bacterias grampositivas, aunque es indispensable para las bacterias gramnegativas. Muchos microorganismos marinos requieren Na^+ para su desarrollo. Durante la elaboración de un medio para el cultivo de la mayor parte de los microorganismos, es necesario proporcionar fuentes de potasio, magnesio, calcio y hierro, por lo general en sus formas iónicas (K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} y Fe^{2+}). Son necesarios muchos otros minerales (p. ej., Mn^{2+}, Mo^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+} y Zn^{2+}); éstos con frecuencia pueden suministrarse en agua corriente o como contaminantes de otros ingredientes de los medios de cultivo.

La captación de hierro, que forma hidróxidos insolubles a pH neutro, es facilitada en muchas bacterias y hongos por la producción de **sideróforos**, compuestos que tienen la capacidad de generar y favorecer su transporte en forma de complejo soluble. Esto incluye a los hidroxamatos ($-CONH_2OH$) conocidos como sideraminas y derivados de catecoles (p. ej., 2,3-dihidroxibenzoilserina). Los sideróforos determinados por plásmidos desempeñan una función importante en la capacidad de invasión de algunos patógenos bacterianos (capítulo 7). Los mecanismos de captación de hierro dependientes de sideróforos y de no sideróforos por las bacterias se revisan en el capítulo 9.

Factores de crecimiento

Un factor de crecimiento es un compuesto orgánico que debe contener la célula a fin de desarrollarse, pero que es incapaz de sintetizar. Muchos microorganismos que reciben los nutrientes mencionados antes son capaces de sintetizar todos los bloques para la construcción de macromoléculas (figura 5-1); estos nutrientes incluyen aminoácidos, purinas, pirimidinas y pentosas (precursores metabólicos de ácidos nucleicos); carbohidratos adicionales (precursores de polisacáridos) y ácidos grasos y compuestos isoprenoides. Además, los microorganismos de vida libre deben ser capaces de sintetizar complejos vitamínicos que actúan como precursores de coenzimas.

Cada uno de estos compuestos esenciales se sintetiza por una secuencia de reacciones enzimáticas; cada enzima se produce bajo el control de un gen específico. Cuando un microorganismo sufre una mutación genética que da origen a la falla en una de estas funciones enzimáticas, la cadena se rompe y ya no se elabora el producto terminal. El microorganismo debe obtener el compuesto de su entorno: el compuesto se transforma en un **factor de crecimiento** para el microorganismo. Este tipo de mutación puede inducirse con facilidad en el laboratorio.

Diferentes especies microbianas varían de forma amplia en cuanto a sus necesidades de factores de crecimiento. Los compuestos involucrados se encuentran y son esenciales en todos los microorganismos; las diferencias en cuanto a necesidades reflejan las distintas capacidades de síntesis. Algunas especies no requieren factores de crecimiento, en tanto que otras (p. ej., los lactobacilos) perdieron durante su evolución la capacidad de sintetizar hasta 30 a 40 compuestos esenciales y por tanto necesitan obtenerlos de su medio ambiente.

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO

Un medio de cultivo adecuado debe contener todos los nutrientes necesarios para el microorganismo que se cultivará; tales factores incluyen pH, temperatura y aireación, que deben ser controlados con gran cuidado. Se utiliza un medio de cultivo líquido; al medio de cultivo puede añadirse agar o gel de sílice para que adquiera consistencia de gel para situaciones especiales. El agar es un polisacárido extraído de algas marinas que es singular para el cultivo microbiano por su resistencia a la acción microbiana y porque se disuelve a 100 °C pero no forma placas de gel hasta que se encuentra por debajo de 45 °C; las células pueden suspenderse en el medio de cultivo a 45 °C; éste debe enfriarse con rapidez hasta que adquiera la consistencia de gel, sin lesionar a las células.

Nutrientes

En páginas previas, se describe cada tipo de nutriente, además se presenta una lista de sustancias apropiadas. En general,

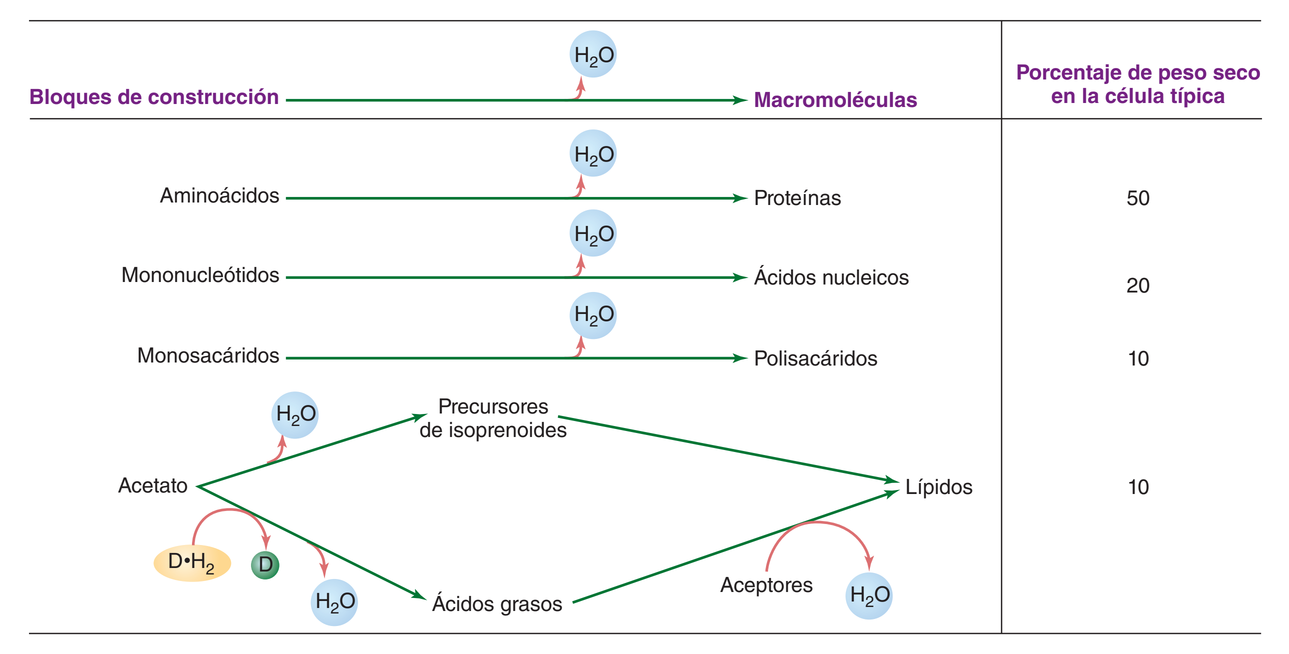


FIGURA 5-1 Síntesis de macromoléculas. La polimerización de los bloques de construcción en macromoléculas se logra en gran medida mediante la introducción de enlaces anhídrido. La formación de ácidos grasos a partir de acetato requiere varias etapas de reducción bioquímica utilizando donadores de hidrógeno orgánico ($D \cdot H_2$).

debe suministrarse lo siguiente: 1) donadores y aceptores de hidrógeno: casi 2 g/L; 2) fuente de carbono: casi 1 g/L; 3) fuente de nitrógeno: casi 1 g/L; 4) minerales: azufre, fósforo, casi 50 mg/L de cada uno y oligoelementos, 0.1 a 1 mg/L de cada uno; y 5) factores de crecimiento: aminoácidos, purinas y pirimidinas, casi 50 mg/L de cada uno y vitaminas, 0.1 a 1 mg/L de cada uno.

Para estudios del metabolismo microbiano, por lo general es necesario preparar un medio completamente sintético en el cual se conozcan las características y concentraciones exactas de cada uno de los ingredientes. Es mucho menos costoso y más simple utilizar materiales naturales como extractos de levaduras, proteínas ingeridas o sustancias similares. La mayor parte de los microbios de vida libre se desarrollan bien en extractos de levaduras; las formas parasitarias pueden necesitar sustancias especiales que se encuentran sólo en la sangre o en extractos de tejidos de animales. Sin embargo, hay microbios parasitarios (p. ej., *Treponema pallidum*) que no pueden cultivarse *in vitro* o que crecen en el interior de células eucariotas (p. ej., *Chlamydia trachomatis*).

Para muchos microorganismos, un compuesto simple (como un aminoácido) puede actuar como fuente de energía, de carbono y nitrógeno; otras requieren compuestos separados para cada uno de estos elementos. Si los materiales naturales para medios no sintéticos tienen deficiencias de algún nutriente particular, deben complementarse.

Concentración de iones hidrógeno (pH)

La mayor parte de los microorganismos tienen un pH óptimo muy estrecho. El pH óptimo debe determinarse de manera empírica para cada especie. La mayor parte de los microorganismos (**neutrolófilos**) proliferan mejor en un pH de 6 a 8, aunque algunas formas (**acidófilos**) encuentran su cifra óptima con pH de 3; otros (**alcalófilos**) tienen un pH óptimo de hasta 10.5.

Los microorganismos regulan su pH interno pese a la amplia gama de cifras de pH externo mediante el bombeo de protones hacia el interior o al exterior de la célula. Los microorganismos acidófilos mantienen su pH interno en casi 6.5 sobre un pH externo de 1 a 5; los microorganismos neutrolófilos mantienen un pH interno cercano a 7.5 con intervalos externos de pH de 5.5 a 8.5; los microorganismos alcalófilos mantienen un pH interno de casi 9.5 sobre intervalos externos de 9 a 11. El pH interno está regulado por un grupo de sistemas de transporte de protones en la membrana citoplásmica, lo que incluye una bomba de protones controlada por ATP y un intercambiador de Na^+/H^+. El sistema de intercambio de K^+/H^+ parece contribuir a la regulación del pH interno en microorganismos neutrolófilos.

Temperatura

La temperatura óptima para el cultivo de las distintas especies microbianas varía (figura 5-2): los **psicrófilos** crecen mejor a temperaturas bajas (–5 a –15 °C) y por lo general se encuentran en ambientes de este tipo como las regiones del Ártico y la Antártida; para los **psicrótrofos**, la temperatura óptima es entre 20 y 30 °C, pero incluso crecen bien a temperaturas más bajas. Constituyen una causa importante de desperdicio alimentario. Los **mesófilos** crecen mejor entre 30 a 37 °C; la mayor parte de los **termófilos** crecen mejor entre 50 a 60 °C. Algunos microorganismos son **hipertermófilos** y pueden desarrollarse a temperatura de ebullición, la cual existe en sitios con alta presión como en las profundidades del océano. La mayor parte de los microorganismos son mesófilos; 30 °C es la temperatura óptima para muchas formas de vida libre y la temperatura corporal del hospedador es óptima para simbiontes homeotermos.

El extremo superior de las temperaturas toleradas por cualquier especie dada se correlaciona bien con la estabilidad térmica general de las proteínas de dicha especie, medidas en

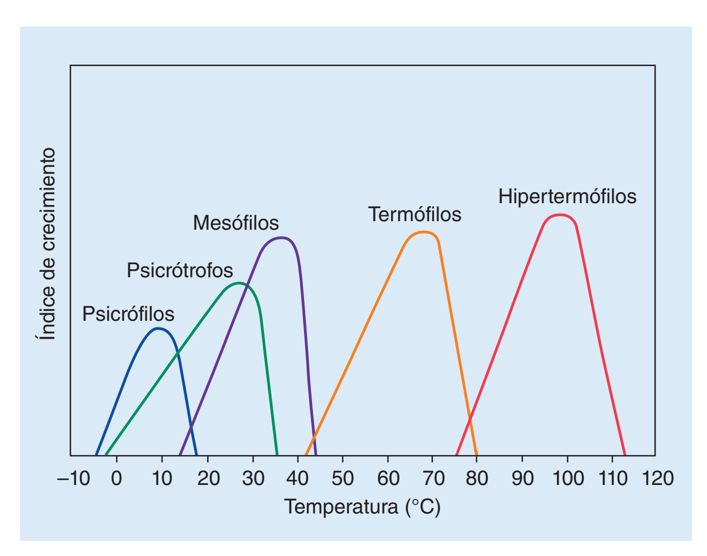


FIGURA 5-2 Necesidades de temperatura para el crecimiento. Las células procariotas por lo general se dividen en cinco grupos con base en su temperatura óptima de crecimiento. Obsérvese que la temperatura óptima, que es el punto donde el crecimiento es mayor, es cercana al límite superior del espectro. (Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [eds]: *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 91. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

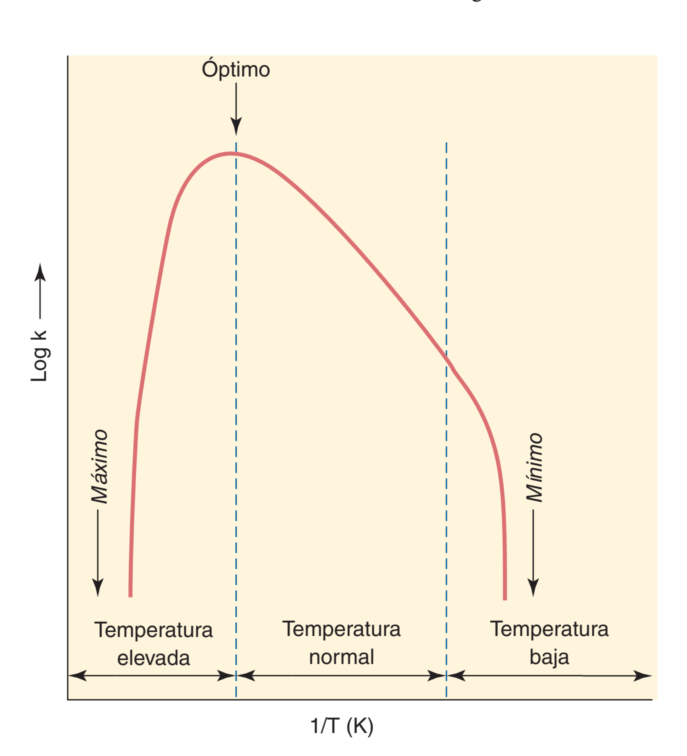


FIGURA 5-3 Forma general del gráfico de Arrhenius de la proliferación bacteriana. (Reproducida con autorización de Ingraham JL: Growth of psychrophilic bacteria. J *Bacteriol* 1958; 76(1):75-80.)

extractos celulares. Los microorganismos comparten con las plantas y animales la **respuesta al golpe de calor**, que consiste en la síntesis transitoria de un grupo de "proteínas de golpe de calor" cuando se exponen a incrementos súbitos en la temperatura por arriba de la temperatura óptima de proliferación. Tales proteínas parecen ser inusualmente resistentes a la temperatura y estabilizan a proteínas celulares sensibles al incremento térmico.

La relación de la tasa de proliferación con la temperatura para cualquier microorganismo dado se observa en el gráfico típico de Arrhenius (figura 5-3). Arrhenius demostró que el logaritmo de la velocidad de cualquier reacción química (log k) es una función lineal del recíproco de la temperatura (1/*T*); como el crecimiento celular es consecuencia de un grupo de reacciones químicas, cabría esperar que se observe esta relación. En la figura 5-3 se muestra el caso de temperaturas por arriba de intervalos normales para una especie dada; el log k disminuye linealmente con 1/*T*. Sin embargo, por arriba y por abajo del intervalo normal, log k disminuye con rapidez, de forma que se definen las temperaturas máxima y mínima.

Además de sus efectos sobre la tasa de proliferación, las temperaturas extremas matan a los microorganismos. La temperatura muy elevada se utiliza para esterilizar preparaciones (capítulo 4); el frío extremo también destruye microorganismos, aunque no puede utilizarse con seguridad con fines de esterilización. Las bacterias también muestran el fenómeno conocido como **choque de enfriamiento**; en éste, las células mueren con el enfriamiento rápido (a diferencia de lo que ocurre con el enfriamiento lento). Por ejemplo, el enfriamiento rápido de *Escherichia coli* de 37 a 5 °C puede destruir 90% de las células. Varios compuestos protegen a éstas del choque de calor o de congelamiento; a menudo se utilizan glicerol y dimetil sulfóxido.

Aireación

En el capítulo 6 se revisa la función del oxígeno como aceptor de hidrógeno. Muchos microorganismos son **aerobios estrictos**, esto es, necesitan oxígeno como aceptor de hidrógeno; otros son **anaerobios facultativos**, es decir, tienen la capacidad de vivir en forma aerobia o anaerobia; otros son **anaerobios estrictos**, pues necesitan una sustancia distinta al oxígeno como aceptor de hidrógeno y son sensibles a la inhibición de oxígeno; otros más son **microaerófilos**, que necesitan pequeñas cantidades de oxígeno (2 a 10%) para la respiración aerobia (la concentración más elevada es inhibidora); otros son **anaerobios aerotolerantes**, pues son indiferentes al oxígeno. Éstos pueden crecer en su presencia pero no lo utilizan como aceptor de hidrógeno (figura 5-4).

Los productos secundarios naturales del metabolismo aerobio son compuestos reactivos de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y superóxido (O_2^-). En presencia de hierro, estas sustancias generan radicales hidroxilo (•OH) que pueden dañar cualquier macromolécula biológica:

$$O_2^- + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{3+}/Fe^{2+}} O_2 + OH_2^- + \bullet OH$$

Muchos microorganismos aerobios y anaerobios tolerantes al aire se protegen de estos productos por la presencia de superóxido dismutasa, una enzima que cataliza la reacción

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

y por la presencia de una catalasa, una enzima que cataliza la reacción

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

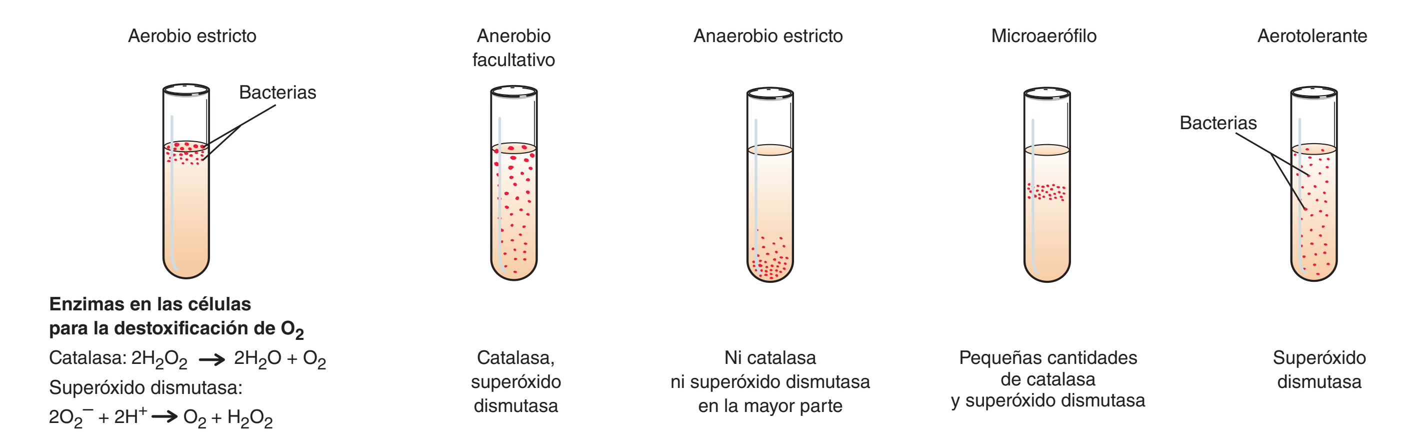


FIGURA 5-4 Requisitos de oxígeno (O_2) de las células procariotas. (Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [editores]: *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 92. © The Mc Graw-Hill Companies, Inc.)

Algunos microorganismos fermentados (p. ej., *Lactobacillus plantarum*) son tolerantes al aire pero no contienen catalasa o superóxido dismutasa. No hay reducción del oxígeno y por tanto no se producen H_2O_2 y O_2^-. Todos los anaerobios estrictos carecen de superóxido dismutasa y catalasa. Algunos microorganismos anaerobios (p. ej., *Peptococcus anaerobius*) tienen tolerancia considerable al oxígeno como consecuencia de su capacidad para producir cifras elevadas de la enzima (NADH oxidasa) que reduce oxígeno a agua con base en la reacción

$$\mathrm{NADH} + \mathrm{H}^+ + {}^1/_2\mathrm{O}_2 \rightarrow \mathrm{NAD}^+ + \mathrm{H}_2\mathrm{O}$$

El peróxido de hidrógeno debe gran parte de su toxicidad al daño que causa al DNA. Los mutantes con reparación deficiente del DNA son excepcionalmente sensibles al peróxido de hidrógeno; el producto génico *recA* participa en la recombinación genética y en la reparación, y ha mostrado ser más importante que la catalasa o la superóxido dismutasa para proteger células de *E. coli* contra la toxicidad por peróxido de hidrógeno.

El proporcionar aire a los cultivos de bacterias aerobias es un problema técnico mayor. Por lo común se lleva a cabo un mezclado mecánico para introducir oxígeno al medio de cultivo o bien se fuerza el paso de aire a través del medio de cultivo por medio de presión. La difusión de oxígeno a menudo se vuelve un factor limitante en la proliferación de bacterias aerobias; cuando se alcanza una concentración de 4 a 5 × 10^9/ml de células, la tasa de difusión de oxígeno limita la tasa de proliferación de las células en gran medida.

Por otra parte, los anaerobios estrictos presentan el problema de la eliminación del oxígeno. Se dispone de muchos métodos para lograr esto: pueden añadirse agentes reductores como el tioglicolato de sodio a los cultivos líquidos; los tubos de agar pueden sellarse con una capa de vaselina y parafina; las placas de cultivo deben colocarse en un contenedor al cual se le retira el oxígeno por medio de vacío o por agentes químicos, o bien el microorganismo puede manipularse en una caja cerrada en un medio anaerobio.

Concentración iónica y presión osmótica

En menor grado, deben controlarse factores como la presión osmótica y concentración de sales. Para la mayor parte de los microorganismos, las propiedades de los medios de cultivo ordinarios son satisfactorias; sin embargo, para formas marinas y microorganismos adaptados para crecer en soluciones hipertónicas de azúcar, por ejemplo, deben tomarse en consideración tales factores. Los microorganismos que requieren concentraciones elevadas de sales se denominan **halófilos**; aquellos que requieren presiones osmóticas elevadas se denominan **osmófilos**.

La mayor parte de las bacterias son capaces de tolerar amplias variaciones de presión osmótica externa y de fuerza iónica, debido a su capacidad para regular la osmolaridad interna y la concentración iónica. La osmolalidad está regulada por transporte activo de iones de K^+ hacia el interior de la célula; la concentración iónica interna se mantiene constante por excreción compensadora de putresceína, una poliamina orgánica con carga positiva. Como la putresceína transporta varias cargas positivas por molécula, una gran reducción en la concentración iónica se lleva a cabo con un pequeño costo en la concentración osmótica.

MÉTODOS DE CULTIVO

Deben considerarse dos problemas: elección del medio de cultivo apropiado y aislamiento de un microorganismo bacteriano.

Medios de cultivo

La técnica y medio de cultivo utilizados dependen de la naturaleza de la investigación. En términos generales, pueden encontrarse tres situaciones: 1) tal vez sea necesario cultivar un grupo de células de una especie en particular que se encuentran a la mano; 2) puede ser necesario establecer el número y tipo de microorganismos presentes en un material dado; o 3) podría desearse el aislamiento de un tipo particular de microorganismo a partir de una fuente natural.

A. Desarrollo celular de una especie dada

Los microorganismos observados en el microscopio pueden proliferar en su ambiente natural y pueden ser extremadamente difíciles de hacer crecer en un medio de cultivo artificial puro. Ciertas formas parasitarias nunca han sido cultivadas fuera del hospedador. Sin embargo, en términos generales puede diseñarse un medio de cultivo apropiado para reproducir de forma

cuidadosa las condiciones encontradas en el entorno natural del microorganismo. El pH, temperatura y aireación son fáciles de duplicar; los nutrientes presentes constituyen el mayor problema. La contribución por el entorno en que se desarrolla el microorganismo es importante y difícil de analizar; un parásito podría necesitar un extracto de tejido del hospedador; una forma de vida libre podría necesitar una sustancia excretada por un microorganismo y con la cual se encuentra asociada. Podría ser necesaria una gran cantidad de experimentación para establecer las necesidades del microorganismo y el éxito depende de proporcionar una fuente apropiada de cada uno de los nutrientes mencionados al inicio de este capítulo. El cultivo de parásitos estrictos como clamidias se revisa en el capítulo 27.

B. Estudio microbiológico de materiales naturales

Un material dado puede contener muchos microambientes diferentes y cada uno proporciona un nicho para diferentes especies. El cultivo de una muestra de material bajo cierto grupo de condiciones permitirá que un grupo selecto de formas produzca colonias, pero podría ocasionar que se pasen por alto muchos otros tipos. Por tal razón, se acostumbra cultivar las muestras utilizando diversos medios de cultivo con diferentes condiciones de incubación, según sea posible en condiciones prácticas. No es irracional utilizar seis u ocho medios de cultivo y condiciones de cultivo diferentes si se van a identificar la mayor parte de las formas presentes.

Cada tipo de microorganismo debe tener la posibilidad de proliferar, por ello se utilizan medios sólidos para evitar el aglomeramiento de colonias. Por otra parte, la competencia evitará que se formen algunos tipos de colonias.

C. Aislamiento de un microorganismo en particular

Una pequeña muestra de tierra, si se manipula de manera apropiada, permite el cultivo de diferentes tipos de microorganismos en cada microentorno presente. Para la tierra fértil (húmeda, aireada, rica en minerales y material orgánico) esto significa que pueden aislarse cientos o incluso miles de tipos bacterianos, lo cual se lleva a cabo al seleccionar el tipo deseado. Por ejemplo, 1 g de tierra se inocula en un frasco de medio de cultivo líquido que se elaboró con el fin de favorecer el crecimiento de un tipo de microorganismo, como bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno (azobacterias). En este caso, el medio no contiene nitrógeno combinado y se incuba en un medio anaerobio. Si las azobacterias están presentes en la tierra, proliferan bien en este medio de cultivo; las formas incapaces de fijar nitrógeno crecerán sólo en la medida que la tierra tenga contaminantes que fijen nitrógeno en el medio. Cuando el cultivo se ha desarrollado por completo, el porcentaje de azobacterias en la población total se habrá incrementado en gran medida; este método se denomina **cultivo enriquecido**. La transferencia de una muestra de este cultivo a un medio fresco dará origen a un enriquecimiento adicional de las azobacterias; después de varias transferencias seriadas el cultivo puede colocarse en un medio de cultivo sólido enriquecido, lo que permite el aislamiento de colonias de azobacterias.

El medio líquido se utiliza para permitir la competencia y por lo tanto la selección óptima, incluso cuando el tipo deseado es representado en la tierra por sólo una pequeña cantidad de células en la población de millones. Pueden obtenerse ventajas del "enriquecimiento natural". Por ejemplo, al observar oxidantes de queroseno, se elige tierra contaminada con aceite, porque éste es un medio ya enriquecido para tales formas bacterianas.

El enriquecimiento de cultivos es un procedimiento mediante el cual se prepara el medio de cultivo para duplicar el ambiente natural ("nicho") del microorganismo deseado, por lo que se permite su selección (figura 5-5). Un principio importante involucrado en tal selección es el siguiente: el microorganismo seleccionado será del tipo del cual se han satisfecho sus necesidades nutricionales. Por ejemplo, las azobacterias crecen en un medio de cultivo que contiene nitrógeno orgánico, pero sus necesidades mínimas consisten en la presencia de N_2; por tanto, se elige un medio de cultivo que contenga N_2 como la única fuente de nitrógeno. Si se añade nitrógeno orgánico al medio de cultivo, las condiciones ya no serán selectivas para azobacterias, sino más bien para las formas en las que el nitrógeno orgánico es una necesidad mínima.

Cuando se busca un tipo específico de microorganismo que forma parte de una población mixta, se utilizan **medios de cultivo selectivos o diferenciales**. Los medios selectivos inhiben el crecimiento de microorganismos distintos del que se está buscando. Por ejemplo, el agar de Thayer-Martin se utiliza para aislar a *Neisseria gonorrhoeae,* causa de la gonorrea, de las muestras clínicas. Los medios diferenciales contienen sustancias que ciertas bacterias cambian de determinada manera. Por ejemplo, las colonias de *E. coli* tienen un color verdoso iridiscente característico al cultivarse en agar que contiene eosina y azul de metileno (agar EMB). El agar EMB contiene altas concentraciones de un carbohidrato que ocasiona que los microorganismos que fermentan azúcar formen colonias de color rojizo. Los medios de cultivo diferenciales se utilizan para propósitos como la identificación de bacterias entéricas en agua o leche y la presencia de ciertos patógenos en muestras clínicas. En el cuadro 5-2 se presentan las características de los medios representativos que se utilizan para cultivar bacterias.

Aislamiento de microorganismos en cultivos puros

A fin de estudiar las propiedades de un microorganismo dado, es necesario manipularlo en cultivos puros sin otros tipos de microorganismos. Para llevar a cabo esto, debe aislarse una sola célula de todas las demás y cultivarse de forma tal que su progenie permanezca aislada. Se dispone de varios métodos.

A. Cultivo en placa

A diferencia de las células en medio líquido, las células en un medio de gel se encuentran inmobilizadas. Por lo tanto, si se colocan pocas células en un medio de gel, cada célula prolifera en una colonia aislada. El agente ideal para la formación de gel para la mayor parte de los medios de cultivo microbiológico es el **agar**, un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas. Una suspensión al 1.5 a 2% en agua se disuelve a 100 °C, dando origen a una solución clara que se gelifica a 45 °C. Una solución de agar estéril puede enfriarse a 50 °C; así, se añaden bacterias u otro microorganismo y más tarde la solución se enfría con rapidez por debajo de 45 °C para formar un gel. (Aunque la mayor

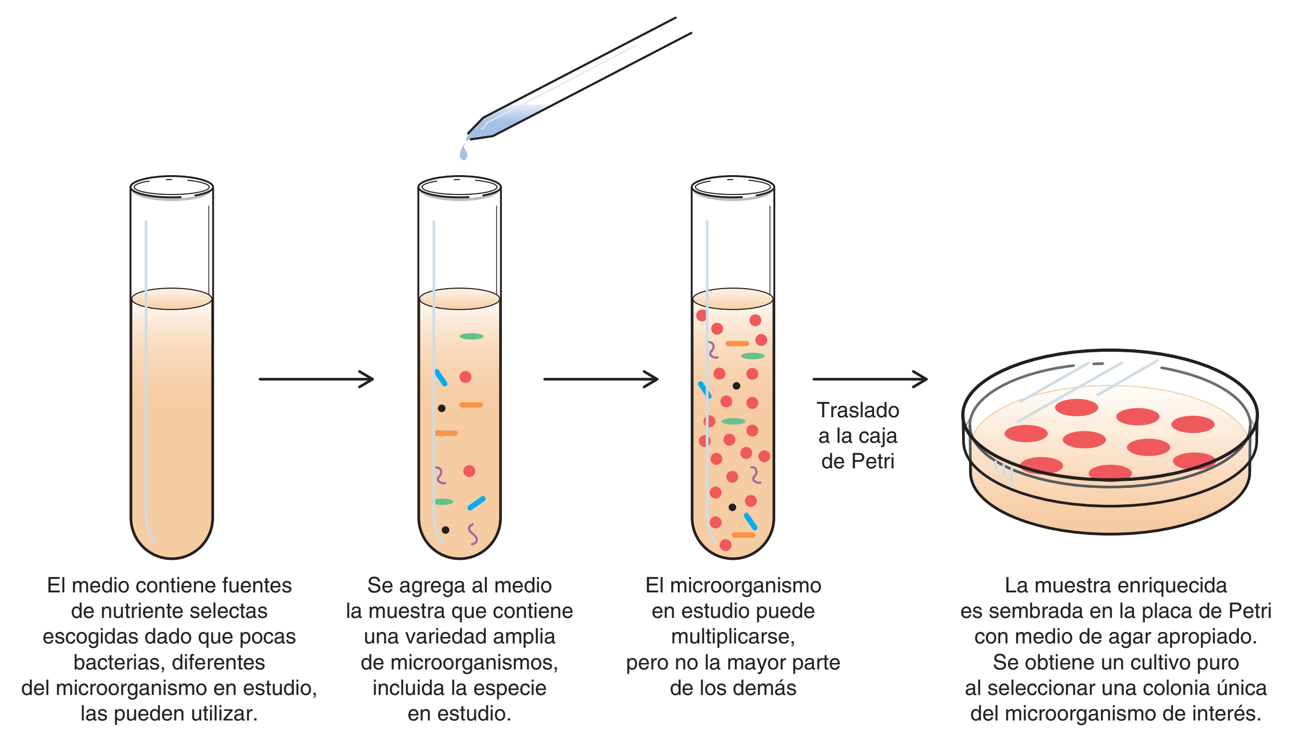


FIGURA 5-5 Cultivo enriquecido. El medio y las condiciones de incubación favorecen el crecimiento de las especies escogidas sobre otras bacterias de la misma muestra. (Reproducido con autorización de Nester EW, Anderson DG. Roberts CE, Nester MT: *Microbiology*: *A human perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 99 © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

parte de las células microbianas se destruyen a 50 °C, el proceso de destrucción es lo suficientemente lento a esta temperatura para permitir que se lleve a cabo el procedimiento; figura 4-3). Una vez formado el gel, el agar no vuelve a tornarse líquido hasta que se calienta por arriba de 80 °C, de manera que cualquier temperatura es apropiada para la incubación de un medio de cultivo microbiano. En el **método de vertido en placa** se mezcla una suspensión de células con agar líquido a 50 °C y se vierte en una **caja de Petri**. Cuando el agar se torna sólido, las células permanecen inmóviles en éste y proliferan dando origen a colonias. Si la suspensión celular está lo suficientemente diluida, las colonias se encontrarán bien separadas, de forma que cada una tiene una alta probabilidad de derivarse de una sola célula (figura 5-6). Sin embargo, para tener la certeza es necesario tomar una colonia del tipo deseado, suspenderla en agua y repetir el procedimiento. La repetición de este procedimiento en varias ocasiones asegura que se obtenga un cultivo puro.

Otro método consiste en crear estrías de la suspensión original sobre una placa de agar con un asa de alambre (técnica **de estriado en placa**). Conforme se continúa con la creación de estrías, cada vez queda un menor número de células en el asa y por último el asa depositará una sola célula en el agar (figura 5-7). La placa se incuba y cualquier colonia bien aislada se retira; se vuelve a suspender en agua y se repite el procedimiento en agar. Si la suspensión se vuelve a someter al método de estriado en placa (y no sólo una parte de la colonia), este

CUADRO 5-2 Carácterísticas de los medios representativos utilizados para cultivar bacterias

Medio	Característica
Agar de sangre	Medio complejo de uso cotidiano en laboratorios clínicos. Es diferencial dado que las colonias de microorganismos hemolíticos están rodeadas por una zona de limpieza de los eritrocitos. No es selectivo.
Agar de chocolate	Medio complejo utilizado para cultivar bacterias de cultivo exigente, particularmente las encontradas en muestras clínicas. No es selectivo o diferencial.
Sales de glucosa	Medio definido químicamente. Se utiliza en experimentos de laboratorio para estudiar necesidades nutricionales de bacterias. No es selectivo o diferencial.
Agar de MacConkey	Medio complejo utilizado para aislar bacilos gramnegativos que habitan de manera típica en el intestino. Es selectivo debido a que las sales biliares y colorantes inhiben a microorganismos grampositivos y cocos gramnegativos. Es diferencial debido a que el indicador de pH se convierte en rojo rosado cuando el azúcar del medio, la lactosa, se fermenta.
Agar de nutriente	Medio complejo utilizado para trabajo de laboratorio cotidiano. Favorece el crecimiento de una variedad de bacterias de cultivo no difícil. No es selectivo ni diferencial.
Thayer-Martin	Medio complejo utilizado para aislar especies de *Neisseria*, que son de cultivo difícil. Es selectivo por contener antibióticos que inhiben a la mayor parte de microorganismos, excepto especies de *Neisseria*. No es diferencial.

(Reproducido con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT: *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 96. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

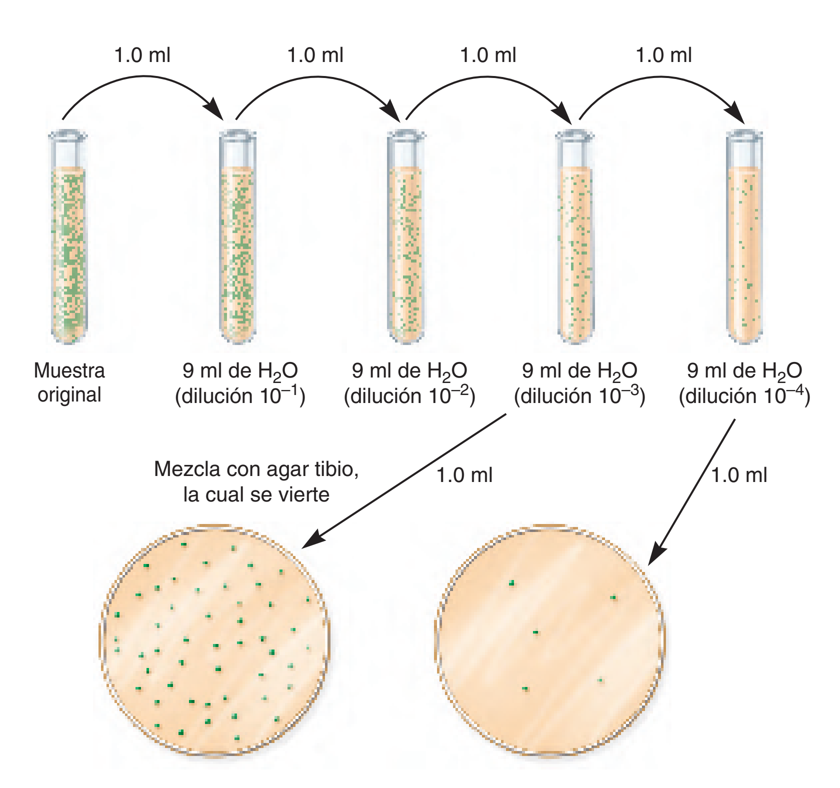


FIGURA 5-6 Técnica de vertido en placa. La muestra original se diluye varias veces para reducir lo suficiente la población. Las muestras más diluidas se mezclan con agar tibio y se vierten en cajas de Petri. Las células aisladas proliferan en colonias y se utilizan para establecer cultivos puros. La superficie de las colonias es circular; por debajo de la superficie adquieren forma lenticular. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology,* 7a. ed., McGraw-Hill, 2008. The McGraw-Hill Companies, Inc.)

método es tan fiable y mucho más rápido que el método de vertido en placa.

En la **técnica de extensión en placa**, un pequeño volumen de suspensión microbiana diluida que contiene 30 a 300 células se transfiere hacia el centro de la placa de agar y se extiende en forma uniforme sobre la superficie con una varilla de cristal estéril, doblada. Las células dispersadas dan origen a colonias aisladas. El número de colonias debe ser similar al número de microorganismos viables en la muestra, por tanto la técnica de extensión en placa puede utilizarse para contar la población microbiana.

B. Dilución

Un método mucho menos fiable es el de la dilución hasta la extinción. Se realizan diluciones seriadas de la suspensión y las muestras de cada dilución se cultivan en placa. Si sólo unas cuantas muestras de una dilución en particular muestran

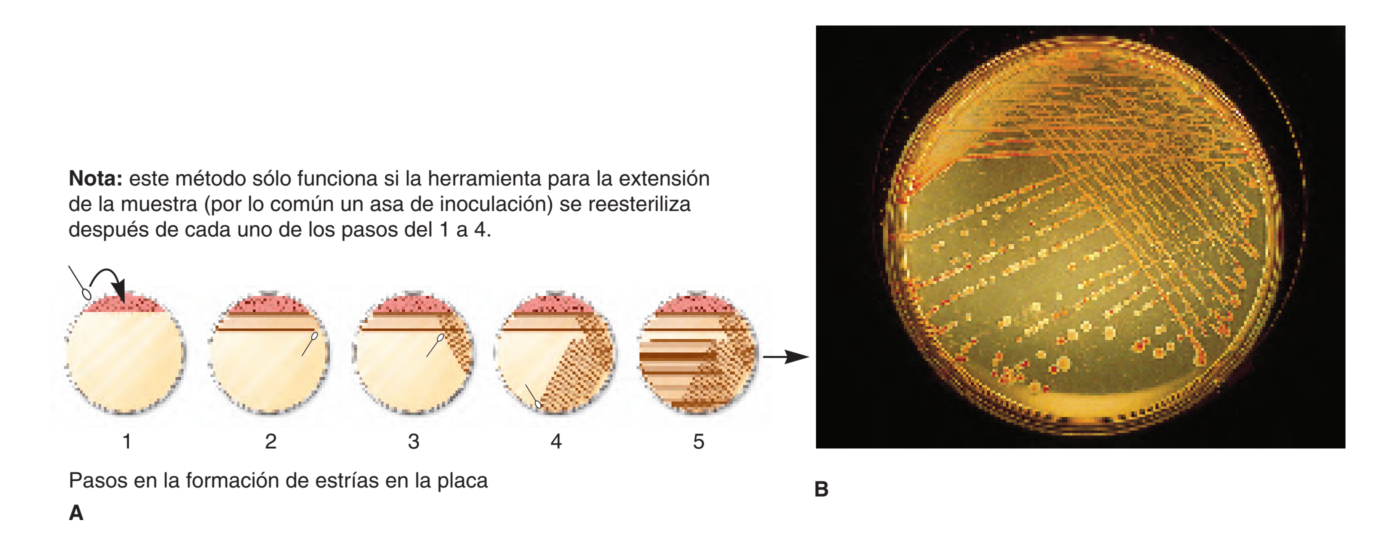


FIGURA 5-7 Técnica de estriado en placa. **A:** Patrón típico de estriación. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology,* 7a. ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.) **B:** Un ejemplo de la placa estriada. (Reproducida con autorización de Kathy Park Talaro.)

crecimiento, se supone, entonces, que algunas de las colonias iniciaron a partir de una sola célula. Este método no se utiliza a menos que sea imposible el cultivo en placa por alguna razón. Una característica indeseable de este método es que sólo puede utilizarse para aislar el tipo predominante de microorganismo en una población mixta.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Un microorganismo necesita todos los elementos en su materia orgánica y el complemento total de iones necesarios para su actividad con el fin de crecer. Los nutrientes se clasifican según los elementos que proporcionan, incluidos una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de azufre, una fuente de fósforo y fuentes de minerales.
- Los factores de crecimiento son compuestos orgánicos que deben poseer una célula para crecer pero que no puede sintetizar.
- También es fundamental una fuente de energía para establecer una fuerza protomotriz y permitir la síntesis macromolecular. Los tres principales mecanismos para generar energía metabólica son fermentación, respiración y fotosíntesis.
- Ciertos factores ambientales como el pH, la temperatura y la aireación son importantes para el crecimiento. La mayor parte de los microorganismos patógenos para el ser humano son neutrolófilos (crecen mejor a un pH de 6 a 8) y mesófilos (crecen mejor de 30 a 37 °C).
- La capacidad de los microorganismos para utilizar oxígeno como aceptor de hidrógeno y para desactivar los productos intermedios nocivos del metabolismo aerobio, varían mucho entre los microorganismos. Se pueden dividir en aerobios estrictos, anaerobios facultativos, anaerobios estrictos, microaerófilos y anaerobios aerotolerantes.
- Es posible preparar medios microbiológicos para permitir el crecimiento de determinado tipo de microorganismo cuyo número es reducido (medio de cultivo enriquecido), identificar tipos específicos de microorganismos (medio de cultivo diferencial) o aislar a un microorganismo específico en una población mixta (medio de cultivo selectivo).

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. La mayor parte de los microorganismos patógenos para seres humanos se desarrollan mejor en el laboratorio cuando los cultivos se incuban de:
   (A) 15 a 20 °C
   (B) 20 a 30 °C
   (C) 30 a 37 °C
   (D) 38 a 50 °C
   (E) 50 a 55 °C
2. El proceso por el cual un microorganismo produce ATP durante la fermentación de glucosa se caracteriza por:
   (A) Acoplamiento de la producción de ATP con la transferencia de electrones
   (B) Desnitrificación
   (C) Reducción de oxígeno
   (D) Fosforilación del sustrato
   (E) Respiración anaerobia
3. El efecto principal de la temperatura de 60 ºC sobre el crecimiento de un mesófilo como la *Escherichia coli* es para:
   (A) Destruir la pared celular
   (B) Desnaturalizar proteínas
   (C) Destruir ácidos nucleicos
   (D) Solubilizar la membrana citoplasmática
   (E) Causar formación de endosporas
4. La polimerización de bloques de construcción (p. ej., aminoácidos) en macromoléculas (p. ej., proteínas) se logra en gran medida por:
   (A) Deshidratación
   (B) Reducción
   (C) Oxidación
   (D) Asimilación
   (E) Hidrólisis
5. Una cepa de *E. coli* no requiere vitaminas cuando crece en un medio definido que contiene glucosa, sales minerales y cloruro de amonio. Esto se debe a que *E. coli*:
   (A) No utiliza vitaminas para su crecimiento
   (B) Obtiene vitaminas de su hospedador humano
   (C) Es un quimioheterótrofo
   (D) Puede sintetizar vitaminas a partir de compuestos simples proporcionados en el medio
   (E) El cloruro de amonio y las sales minerales contienen oligocantidades de vitaminas
6. ¿Cuál de los siguientes NO es un mecanismo de los microorganismos para generar energía metabólica?
   (A) Fermentación
   (B) Síntesis de proteínas
   (C) Respiración
   (D) Fotosíntesis
   (E) C y D
7. ¿Cuál de los siguientes términos describe mejor al microorganismo que crece a 20 °C?
   (A) Neutrolófilo
   (B) Psicrótrofo
   (C) Mesófilo
   (D) Osmófilo
   (E) Termófilo
8. La capacidad de asimilar N_2 en forma reductiva a través de NH_3 se denomina:
   (A) Amonificación
   (B) Anamox
   (C) Reducción asimilatoria de nitratos
   (D) Desaminación
   (E) Fijación de nitrógeno
9. ¿Cuál de los siguientes NO es asimilado por las células eucariotas?
   (A) Glucosa
   (B) Lactato
   (C) Sulfato (SO_4^{2-})
   (D) Nitrógeno (N_2)
   (E) Fosfato ((PO_4^{3-})
10. Las bacterias que son patógenos intracelulares estrictos para el ser humano (p. ej., *Chlamydia trachomatis*) se consideran:
    (A) Autótrofos
    (B) Fotosintéticos
    (C) Quimiolitótrofos
    (D) Hipertermófilos
    (E) Heterótrofos

Respuestas

1. C
2. D
3. B
4. A
5. D
6. B
7. B
8. E
9. D
10. E

BIBLIOGRAFÍA

Adams MW: Enzymes and proteins from organisms that grow near or above 100°C. *Annu Rev Med* 1993;47:627.
Koch AL: Microbial physiology and ecology of slow growth. *Microbiol Molec Biol Rev* 1997;61:305.
Maier RM, Pepper IL, Gerba CP: *Environmental Microbiology*. Academic Press, 1992.
Marzlut GA: Regulation of sulfur and nitrogen metabolism in filamentary fungi. *Annu Rev Microbiol* 1993;42:89.
Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.
Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. *Microbiol Molec Biol Rev* 2004;68:686.
Wood JM: Bacterial osmoregulation: A paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:215.

C A P Í T U L O

6

Metabolismo microbiano

PARTICIPACIÓN DEL METABOLISMO EN LA BIOSÍNTESIS Y CRECIMIENTO

El crecimiento microbiano requiere la polimerización de bloques bioquímicos de construcción para dar origen a proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos. Los bloques de construcción tienen que encontrarse preformados en el medio de cultivo o tienen que sintetizarlo las células en crecimiento. Las demandas biosintéticas adicionales dependen de las necesidades de coenzimas para que participen en la catálisis enzimática. Las reacciones biosintéticas de polimerización necesitan la transferencia de enlaces anhídrido a partir del ATP. El crecimiento exige una fuente de energía metabólica para la síntesis de enlaces anhídrido y para la conservación de los gradientes transmembrana de iones y metabolitos.

El **metabolismo** tiene dos componentes, **catabolismo** y **anabolismo** (figura 6-1). El catabolismo comprende procesos que albergan energía liberada por la degradación de compuestos (p. ej., glucosa) y el aprovechamiento de esa energía para sintetizar **ATP**. Por el contrario, el anabolismo o **biosíntesis**, comprende procesos que utilizan la energía almacenada en el ATP para sintetizar y formar las subunidades, o bloques de construcción, de macromoléculas que componen la célula. La secuencia de bloques de construcción en una macromolécula depende de una de dos vías. En los ácidos nucleicos y proteínas es **dirigida por una plantilla**: el DNA actúa como plantilla para su propia síntesis y para la síntesis de diversos tipos de RNA; el RNA mensajero actúa como plantilla para la síntesis de proteínas. Por otra parte, para los carbohidratos y lípidos la disposición de los bloques de construcción depende en su totalidad de enzimas específicas. Una vez que se han producido las macromoléculas, se ensamblan para dar origen a estructuras supramoleculares de la célula, por ejemplo ribosomas, membranas, pared celular, flagelos y pilosidades.

La tasa de síntesis de macromoléculas y la actividad de las vías metabólicas debe ser regulada de forma que la biosíntesis permanezca en equilibrio. Todos los componentes necesarios para la síntesis de macromoléculas deben estar presentes para un crecimiento ordenado y debe ejercerse control de forma tal que los recursos de la célula no deben dar origen a productos que no contribuyan al crecimiento o supervivencia de la célula.

El capítulo contiene una revisión del metabolismo microbiano y su regulación. Los microorganismos representan extremos de la divergencia de la evolución y se encuentra una amplia variedad de vías metabólicas en este grupo. Por ejemplo, cualquiera de más de media docena de vías metabólicas diferentes puede utilizarse para la asimilación de benzoato, un compuesto relativamente simple, y una vía simple para la asimilación de benzoato puede ser regulada por más de media docena de mecanismos de control. El objetivo de los autores es ilustrar los principios subyacentes a las vías metabólicas y su regulación. El principio fundamental que determina las vías metabólicas es el logro de unas cuantas reacciones bioquímicas relativamente organizadas en un orden específico. Muchas vías biosintéticas pueden deducirse si se examinan las estructuras químicas del material inicial, el producto terminal y quizá uno o dos intermediarios metabólicos. El principio subyacente principal de la regulación metabólica es que las enzimas tienden a participar sólo cuando se demanda su actividad catalítica. La actividad de una enzima puede cambiarse si se modifican las cantidades de la misma o la cantidad de sustrato. En algunos casos, las actividades enzimáticas se alteran al unirse a **efectores** específicos, metabolitos que modulan la actividad enzimática.

METABOLITOS FOCALES Y SU INTERCONVERSIÓN

Interconversiones de glucosa 6-fosfato y carbohidratos

Los orígenes biosintéticos de los bloques de construcción y coenzimas, proviene de unos cuantos precursores, llamados **metabolitos focales**. En las figuras 6-2 y 6-5 se ilustra la manera como los metabolitos focales respectivos, glucosa 6-fosfato (G6PD), fosfoenolpiruvato, oxaloacetato y α-cetoglutarato originan la mayor parte de los productos biosintéticos terminales.

En la figura 6-2 se ilustra la forma en que la G6PD se convierte a diversos productos terminales por la vía de ésteres de fosfato o de carbohidratos con diferentes longitudes de cadena. Los carbohidratos poseen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$ y el objetivo primario del metabolismo de los carbohidratos es modificar *n*, es decir, la longitud de la cadena de carbonos. El mecanismo por el cual la longitud de la cadena de fosfatos de carbohidrato se interconvierte se resume en la figura 6-6. En un caso se utilizan reacciones de oxidación para eliminar un carbono de la molécula de G6PD, lo que produce un derivado pentosa, la ribulosa 5-fosfato. Las reacciones de isomerasa y epimerasa transforman las formas bioquímicas más comunes de las pentosas: ribulosa 5-fosfato, ribosa 5-fosfato y xilulosa 5-fosfato. Las transcetolasas transfieren un fragmento de los

apter 06_Carroll_4R.indd 81 14/04/16

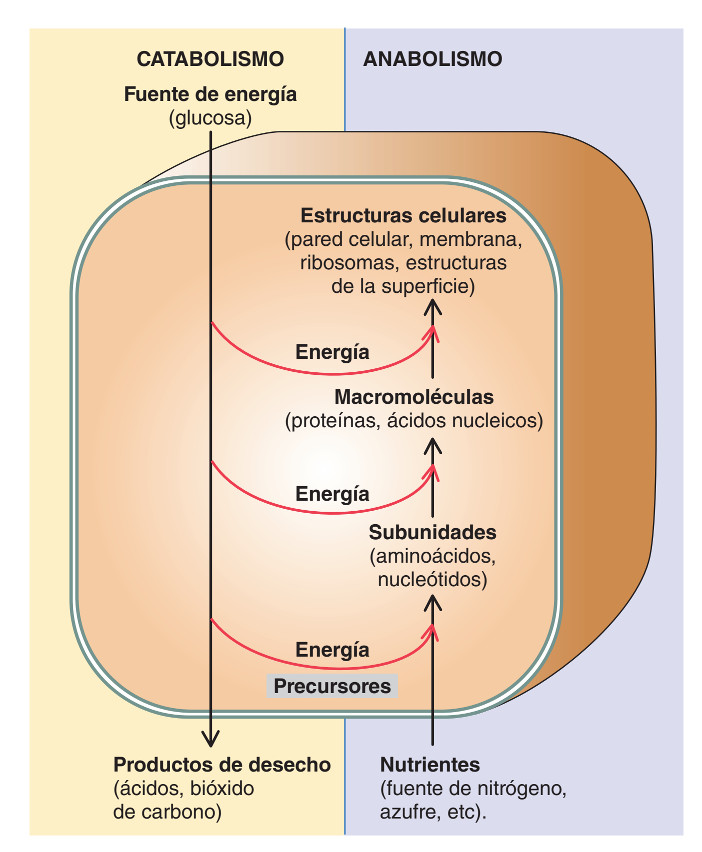


FIGURA 6-1 Relación entre el catabolismo y anabolismo. El catabolismo comprende procesos que albergan energía liberada durante la desintegración de compuestos, utilizándola para sintetizar trifosfato de adenosina (ATP); además, proporciona los metabolitos precursores utilizados en la biosíntesis. El anabolismo, o biosíntesis, comprende procesos que utilizan ATP y metabolitos precursores para sintetizar y forma subunidades de macromoléculas que componen la célula. (Reproducida con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [eds]: *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 127. © The Mc Graw-Hill Companies, Inc.)

carbonos de una molécula donadora a una aceptora. Estas reacciones permiten que se produzcan pentosas o que éstas se formen de carbohidratos con diferentes longitudes de cadena. Como se muestra en la figura 6-6, 2 moléculas de pentosa 5-fosfato ($n = 5$) se interconvierten con triosa 3-fosfato ($n = 3$) y heptosa 7-fosfato ($n = 7$); la pentosa 5-fosfato ($n = 5$) y tetrosa 4-fosfato ($n = 4$) se interconvierten con triosa 3-fosfato ($n = 3$) y hexosa 6-fosfato ($n = 6$).

La cadena hexosa (de seis carbonos) de la fructosa 6-fosfato puede convertirse a dos moléculas de triosa (tres carbonos) por la acción consecutiva de cinasas y aldolasas que actúan sobre la fructosa 6-fosfato. También, las aldolasas actúan en combinación con las fosfatasas que en conjunto pueden utilizarse para incrementar la longitud de las moléculas de carbohidratos: las moléculas de triosa-fosfato pueden dar origen a fructosa 6-fosfato; una triosa-fosfato y tetrosa 4-fosfato pueden dar origen a heptosa 7-fosfato. La forma final de la interconversión en la longitud de la cadena del carbohidrato es la reacción de transaldolasa, en la cual ocurre la interconversión de heptosa 7-fosfato y triosa 3-fosfato a tetrosa 4-fosfato y hexosa 6-fosfato.

La vía alternativa de las hexosas monofosfatadas (figura 6-7) ilustra la coordinación de diferentes reacciones que implican el reordenamiento de carbohidratos para cumplir con un objetivo metabólico general. Las cianobacterias aprovechan este ciclo para reducir la molécula dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+, *nicotinamide adenine dinucleotide*) en dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH, *reduced nicotinamide adenine dinucleotide*), el cual funciona como reductor para procesos de respiración que ocurren durante la oscuridad. Numerosos microorganismos utilizan la vía alternativa de las hexosas monofosfatadas para reducir el dinucleótido de noctinamida y adenina fosfatado ($NADP^+$, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) en dinucleótido de noctinamida y adenina fosfatado reducido (NADPH, *reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*), una molécula que se usa en reacciones de reducción biosintéticas. El primer paso en la vía de monofosfato de hexosa son reacciones de oxidación que acortan las moléculas de hexosa 6-fosfato (abreviado como C_6 en la figura 6-7) a pentosa 5-fosfato (abreviado como C_5). Las reacciones de reordenamiento de los carbohidratos convierten seis moléculas de C_5 a cinco moléculas de C_6, de forma que puede continuar el ciclo de oxidación.

Por supuesto, no todas las reacciones para la interconversión de carbohidratos con incremento de la longitud de las cadenas se llevan a cabo al mismo tiempo. La selección de grupos específicos de enzimas, que en esencia determinan la vía metabólica que se seguirá, depende de la fuente de carbono y de las demandas biosintéticas de las células. Por ejemplo, una célula que utiliza triosa-fosfato como fuente de carbohidratos utilizará una combinación de aldolasa-fosfatasa para dar origen a fructosa 6-fosfato; no es de esperarse que la cinasa que actúa sobre la fructosa 6-fosfato en su interconversión a triosa-fosfato se active bajo tales circunstancias. Si las demandas de pentosa 5-fosfato son altas, como en el caso de la asimilación fotosintética de dióxido de carbono, las transcetolasas que pueden dar origen a pentosa 5-fosfato son muy activas.

En suma, la G6PD puede considerarse como un metabolito focal porque actúa como precursor directo para la construcción de bloques metabólicos y como fuente de carbohidratos de longitud variable que se utilizan con fines biosintéticos. La G6PD misma puede generarse con otros carbohidratos fosforilados por la selección de vías de entre un grupo de reacciones para la interconversión de longitudes de cadenas de carbohidratos. Las reacciones elegidas dependen del potencial genético de la célula, de la fuente primaria de carbono y de las demandas biosintéticas del microorganismo. Es necesaria la regulación metabólica para asegurar que las reacciones satisfagan las necesidades del microorganismo.

Formación y utilización de fosfoenolpiruvato

Las moléculas de triosa-fosfato, formadas por la interconversión de fosfoésteres de carbohidrato, se interconvierten a fosfoenolpiruvato por una serie de reacciones que se muestran en la figura 6-8. La oxidación de gliceraldehído 3-fosfato por NAD^+ se acompaña de la formación de enlaces anhídrido en uno de los carbonos de la molécula de 1,3-difosfoglicerato. Este anhídrido de fosfato se transfiere en una **fosforilación de sustrato** a difosfato de adenosina (ADP, *adenosine diphosphate*), lo que da origen a enlaces ricos en energía en el ATP.

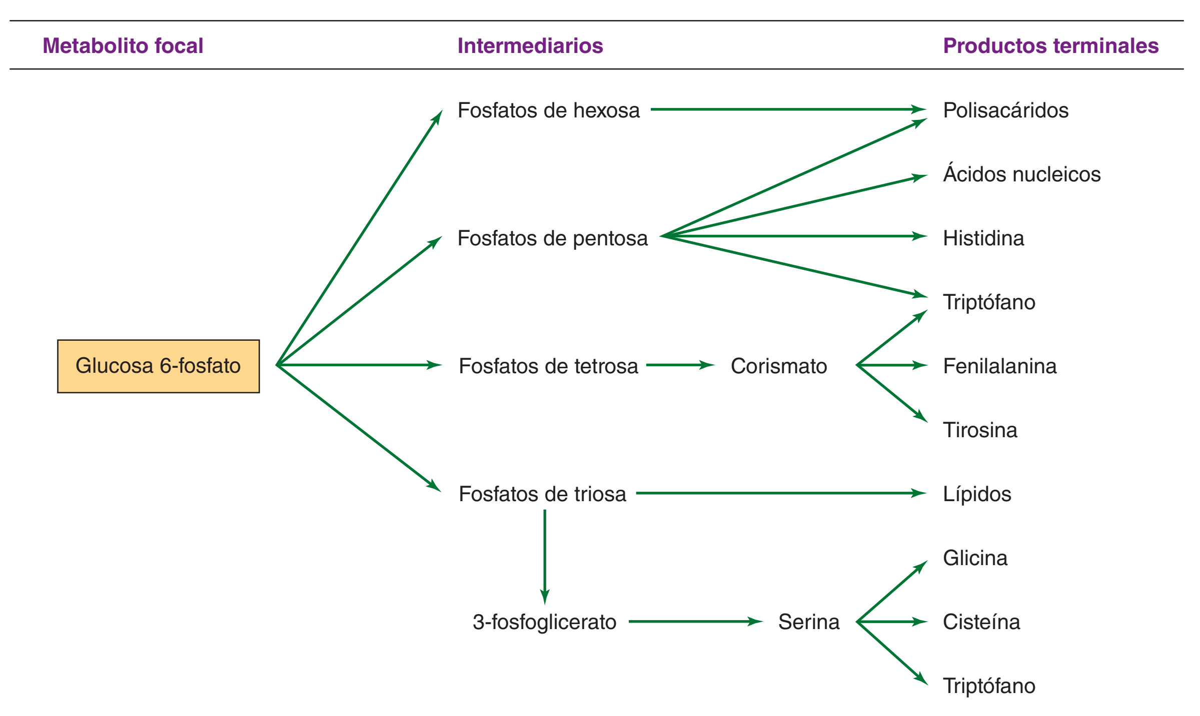


FIGURA 6-2 Productos biosintéticos terminales formados de glucosa 6-fosfato. Los ésteres fosfato de carbohidrato de cadenas de longitud variable sirven como intermediarios en la vía biosintética.

Otro enlace de fosfato rico en energía se forma por la deshidratación del 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato; a través de otra fosforilación de sustrato, el fosfoenolpiruvato puede donar enlaces ricos en energía al ADP, lo que da origen a la formación de ATP y piruvato. Así, pueden obtenerse dos enlaces ricos en energía en el ATP por medio de interconversión metabólica de triosa-fosfato a piruvato. Este es un proceso oxidativo y, en ausencia de un aceptor exógeno de electrones, el NADH generado por la oxidación de gliceraldehído 3-fosfato debe oxidarse a NAD^+ por medio de piruvato o por metabolitos derivados del piruvato. Los productos formados como consecuencia de este proceso varían y, como se describe más adelante en este

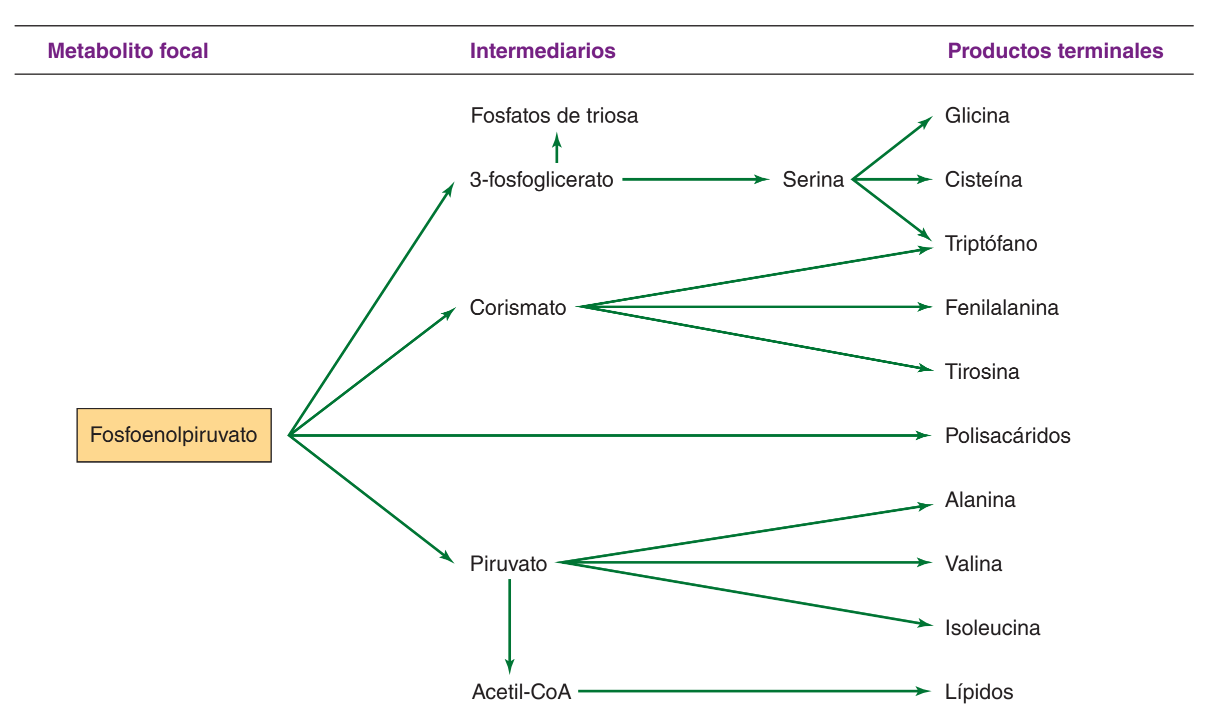


FIGURA 6-3 Productos biosintéticos terminales formados de fosfoenolpiruvato.

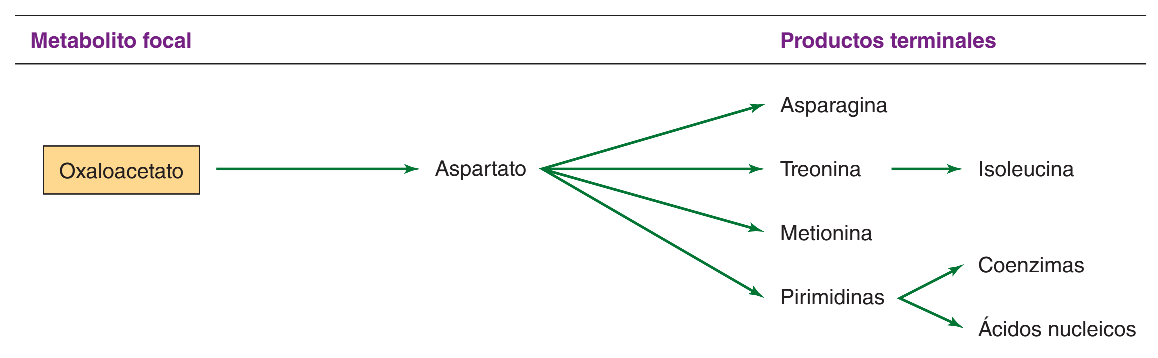


FIGURA 6-4 Productos biosintéticos terminales formados de oxaloacetato. Los productos terminales aspartato, treonina y las pirimidinas sirven de intermediarios en la síntesis de compuestos adicionales.

capítulo, pueden utilizarse en la identificación de bacterias de importancia clínica.

La formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato exige cantidades sustanciales de energía metabólica e invariablemente en el proceso se invierten dos enlaces anhídrido de ATP. Algunos microorganismos (p. ej., *Escherichia coli)* producen directamente la fosforilación del piruvato con ATP, lo que da origen a monofosfato de adenosina (AMP, *adenosine monophosphate*) y fosfato inorgánico (P_i, *inorganic phosphate*). Otros microorganismos utilizan dos pasos metabólicos: se invierte un enlace de pirofosfato de ATP en la carboxilación del piruvato a oxaloacetato y un segundo enlace de pirofosfato (a menudo donado por trifosfato de guanosina [GTP, *guanosine triphosphate*], en vez de ATP) para generar fosfoenolpiruvato a partir de oxaloacetato.

Formación y utilización de oxaloacetato

Como se describió antes, muchos microorganismos producen oxaloacetato por una carboxilación de piruvato dependiente de ATP. Otros microorganismos, como *E. coli,* que forman fosfoenolpiruvato directamente de piruvato, sintetizan oxaloacetato por carboxilación de fosfoenolpiruvato.

La succinil-CoA es necesaria como precursor biosintético para la síntesis de porfirinas y de otros compuestos esenciales. Algunos microorganismos forman succinil-CoA por la reducción de oxaloacetato a través de malato y fumarato. Estas reacciones representan un flujo metabólico invertido que se observa en el ciclo del ácido tricarboxílico (figura 6-11).

Formación de cetoglutarato α a partir de piruvato

Las conversiones de piruvato a cetoglutarato α necesitan una vía metabólica que diverge y luego converge (figura 6-9). En una vía, se forma oxaloacetato por carboxilación de piruvato o fosfoenolpiruvato. En la otra vía, se oxida el piruvato a acetil-CoA. Vale la pena destacar que, sin importar el mecanismo enzimático utilizado para la formación de oxaloacetato, se necesita acetil-CoA como efector metabólico positivo para este proceso. Así, la síntesis de oxaloacetato se equilibra con la producción de acetil-CoA. La condensación de oxaloacetato con acetil-CoA da origen a la formación de citrato. La isomerización de la molécula de citrato produce isocitrato, el cual sufre descarboxilación oxidativa para dar origen a cetoglutarato α.

VÍAS DE ASIMILACIÓN

Crecimiento con acetato

El acetato se metaboliza a través de acetil-CoA, y muchos microorganismos poseen la capacidad de formar acetil-CoA (figura 6-10). La molécula de acetil-CoA se utiliza para la biosíntesis de cetoglutarato α y en la mayor parte de los microorganismos con mecanismos respiratorios, los fragmentos acetilo de acetil-CoA sufren oxidación completa a dióxido de carbono a través del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (figura 6-11). La capacidad de utilizar acetato como fuente neta de carbono se limita a unos cuantos microorganismos y plantas. La síntesis neta de

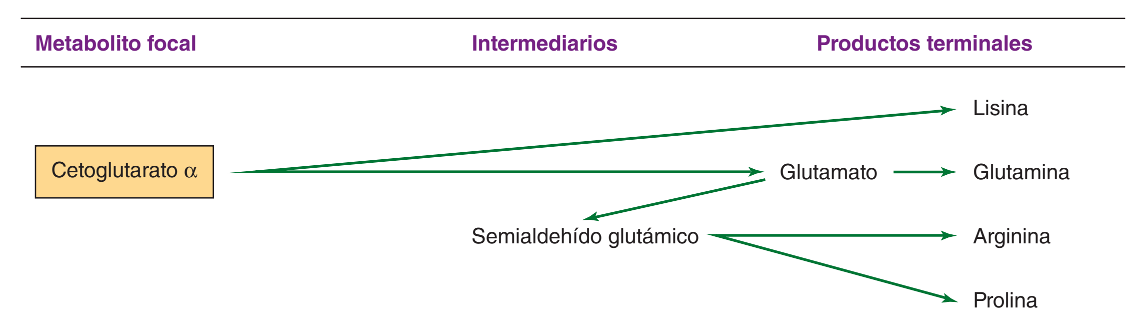
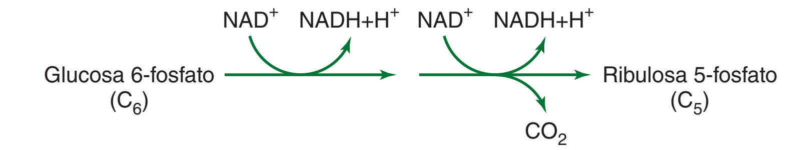
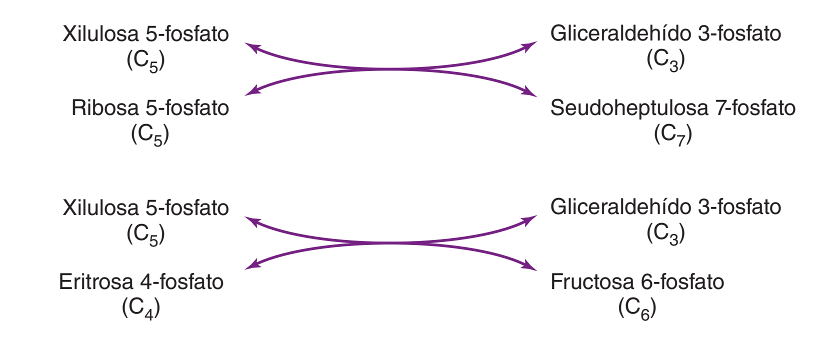


FIGURA 6-5 Productos biosintéticos terminales formados de cetoglutarato α.

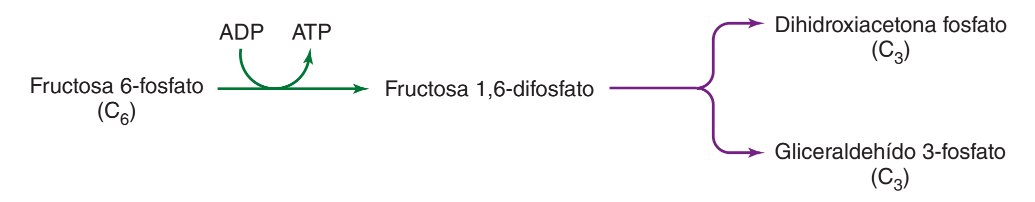
Deshidrogenasas



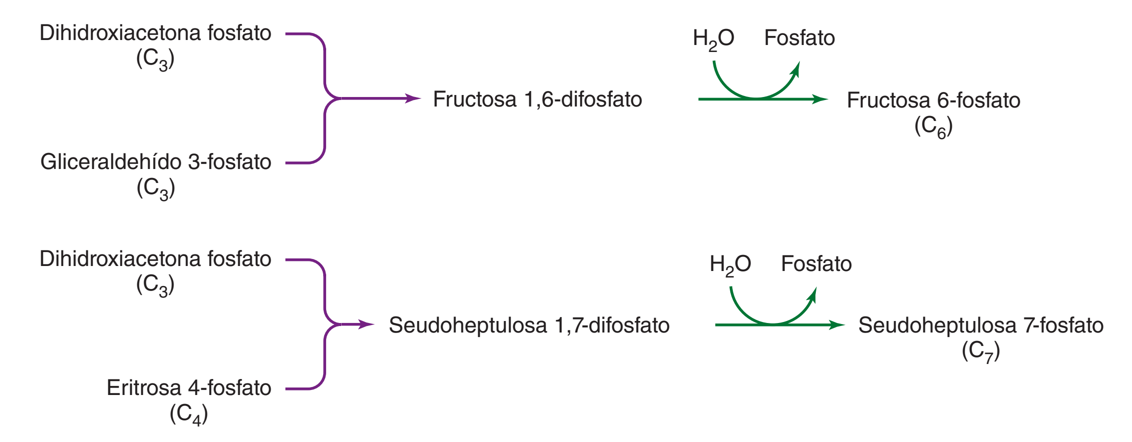
Transcetolasas



Cinasa, aldolasa



Aldolasa, fosfatasa



Transaldolasa

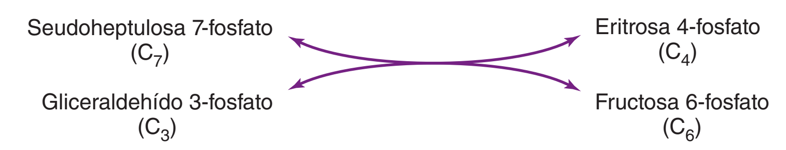


FIGURA 6-6 Mecanismos bioquímicos para el cambio de longitud de las moléculas de carbohidrato. La fórmula empírica general para los ésteres fosfato de carbohidratos ($C_nH_{2n}O_n$)-*N*-fosfato se abrevia (C_n) con la finalidad de destacar los cambios en la longitud de la cadena.

Reacción neta

Glucosa 6-fosfato + 12NAD$^+$ $\xrightarrow{+ H_2O}$ $6CO_2$ + 12NADH + Fosfato

FIGURA 6-7 Vía de monofosfato de hexosas. Las reacciones oxidativas (figura 6-6) reducen el NAD$^+$ (fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina) y producen CO_2, lo que acorta seis moléculas de fosfatos de hexosa (que se abrevian como C_6) a seis fosfatos de pentosa (que se abrevian como C_5). La predisposición de los carbohidratos (figura 6-6) convierte los fosfatos de pentosa a fosfatos de hexosa de forma tal que puede continuar el ciclo oxidativo.

precursores biosintéticos a partir de acetato se logra mediante reacciones de acoplamiento del ciclo del ácido tricarboxílico con dos reacciones adicionales catalizadas por isocitrato liasa y malato sintasa. Como se muestra en la figura 6-12, estas reacciones permiten la conversión oxidativa *neta* de dos radicales acetilo a partir de acetil-CoA a una molécula de succinato. El succinato puede utilizarse con fines biosintéticos después de su conversión a oxaloacetato, cetoglutarato α, fosfoenolpiruvato o G6PD.

Crecimiento con dióxido de carbono: ciclo de Calvin

Al igual que las plantas y algas, varias especies microbianas pueden utilizar dióxido de carbono como única fuente de carbono. En casi todos estos organismos, la vía primaria de asimilación de carbono es mediante el ciclo de Calvin, en el cual el dióxido de carbono y difosfato de ribulosa se combinan para

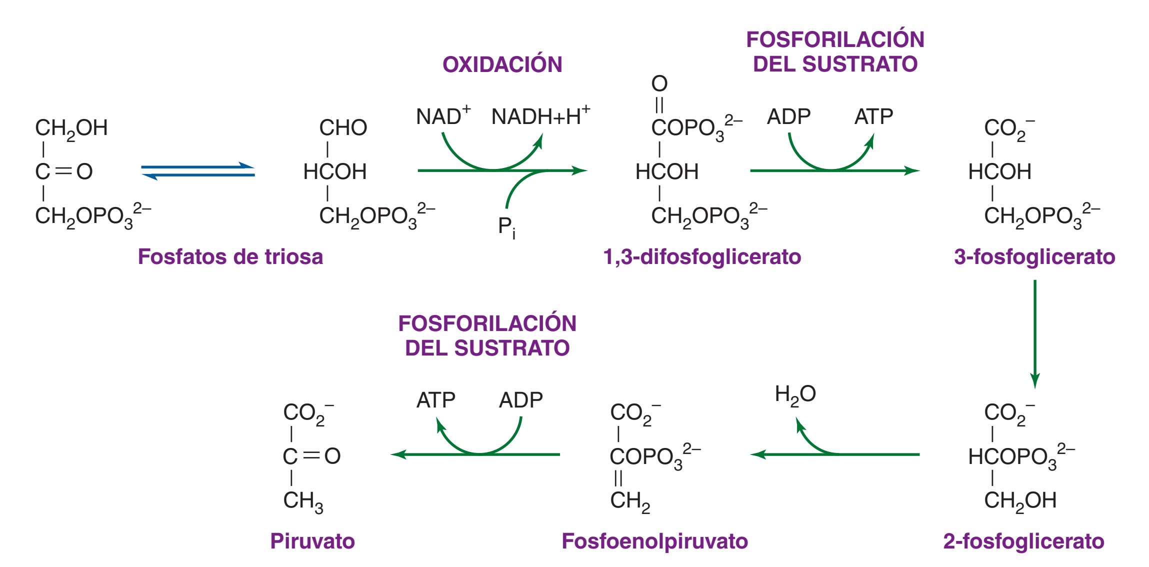


FIGURA 6-8 Formación de fosfoenolpiruvato y de piruvato a partir de fosfatos de triosa. La figura llama la atención a dos sitios de fosforilación del sustrato y a un paso oxidativo que da origen a la reducción de NAD$^+$ (fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina) a NADH (hidruro dinucleótido de nicotinamida y adenina). La repetición de esta vía productora de energía demanda un mecanismo de oxidación para NADH a NAD$^+$. Para lograr este objetivo, los microorganismos fermentadores utilizan piruvato o metabolitos derivados del piruvato como oxidantes.

NAD^+ HSCoA CO_2 $NADH+H^+$

CO_2^- | C=O | CH_3

Piruvato

O || CH_3CSCoA

Acetil-CoA

CO_2

ATP ADP

CO_2^- | C=O | CH_3

Piruvato

Se necesita acetil-CoA para la actividad

O=CCO_2^- | $CH_2CO_2^-$

Oxaloacetato

H_2O HSCoA

$CH_2CO_2^-$ | $HOCCO_2^-$ | $CH_2CO_2^-$

Citrato

H_2O

$CHCO_2^-$ | CCO_2^- | $CH_2CO_2^-$

Aconitato

H_2O

ATP H_2O P_i AMP

CO_2^- | $COPO_3^{2-}$ || CH_2

Fosfoenol-piruvato

CO_2

O=CCO_2^- | CH_2 | $CH_2CO_2^-$

Cetoglutarato α

CO_2

O=CCO_2^- | $CHCO_2^-$ | $CH_2CO_2^-$

Oxalosuccinato

$NADH+H^+$ NAD^+

$HOCHCO_2^-$ | $CHCO_2^-$ | $CHCO_2^-$

Isocitrato

FIGURA 6-9 Conversión de piruvato a cetoglutarato α. El piruvato se convierte a cetoglutarato α por una desviación de la vía biosintética. En una dirección, el piruvato se oxida a acetil-CoA; en el otro sentido, el piruvato sufre carboxilación a oxaloacetato.

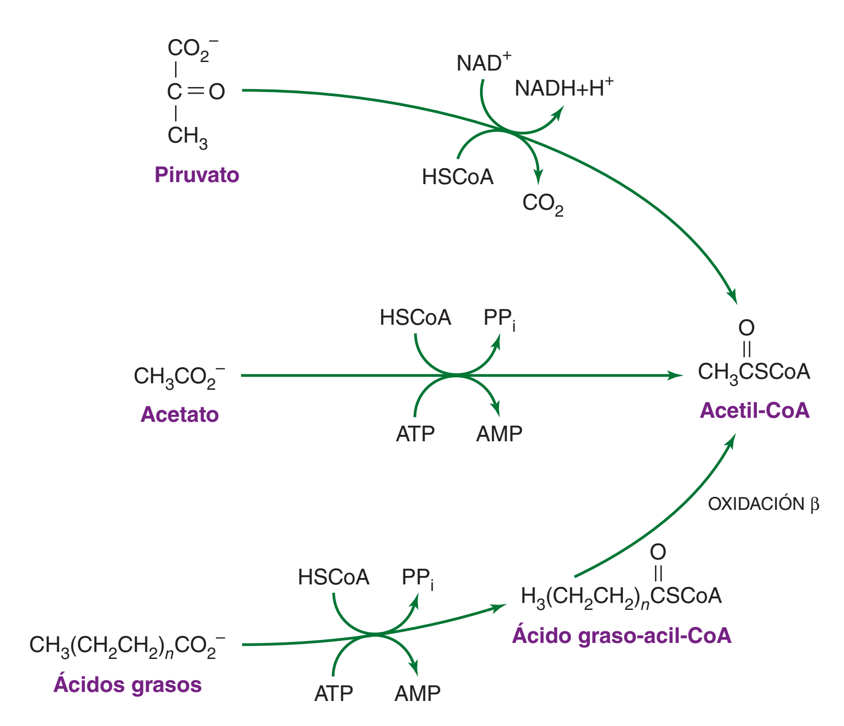


FIGURA 6-10 Fuentes bioquímicas de acetil-CoA. AMP, monofosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina.

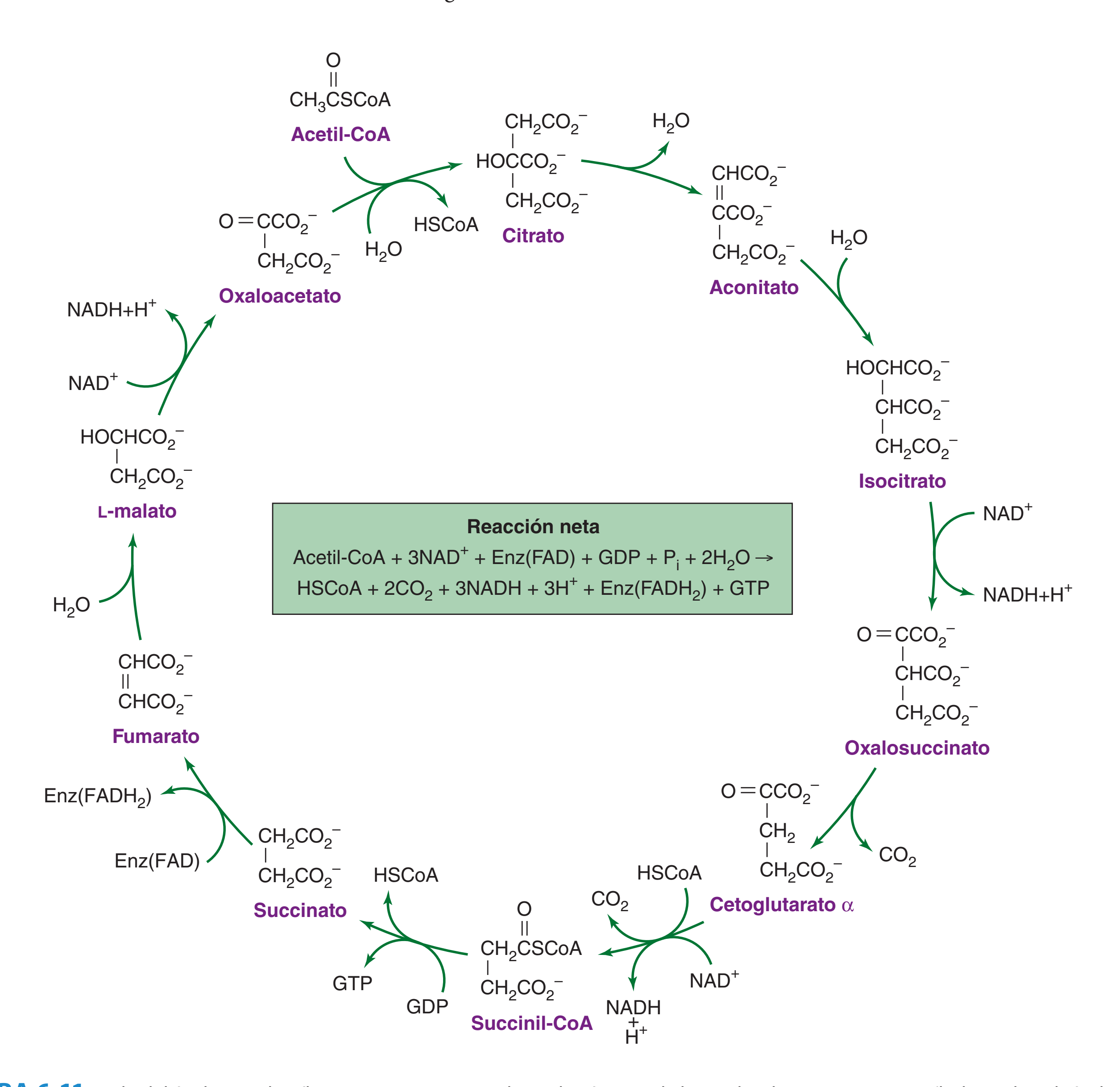


FIGURA 6-11 Ciclo del ácido tricarboxílico. Hay cuatro etapas de oxidación, tres de las cuales dan origen a NADH (hidruro dinucleótido de nicotinamida y adenina) y una da origen a una flavoproteína reducida, Enz(FADH$_2$). El ciclo puede continuar sólo si se dispone de aceptores de electrones para que oxiden el NADH y la flavoproteína reducida. GDP, difosfato de guanosina; GTP, trifosfato de guanosina.

formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato (figura 6-13A). El 3-fosfoglicerato sufre fosforilación a 1,3-difosfoglicerato y este compuesto se reduce a gliceraldehído 3-fosfato, un derivado triosa. Las reacciones de reordenamiento de carbohidratos (figura 6-6) permiten que los fosfatos de triosa se conviertan a ribulosa 5-fosfato, un derivado pentosa, el cual sufre fosforilación para regenerar la molécula aceptora, ribulosa 1,5-difosfato (figura 6-13B). El carbono adicional reducido, formado por la asimilación de reducción del dióxido de carbono, se convierte a metabolitos focales para las vías de biosíntesis.

Las células que utilizan dióxido de carbono como única fuente de carbono se denominan **autótrofas** y las demandas de este patrón de asimilación de carbono pueden resumirse brevemente como sigue: además de las reacciones primarias de asimilación que dan origen a 3-fosfoglicerato, debe haber un mecanismo para la regeneración de la molécula aceptora, ribulosa 1,5-difosfato. Este proceso demanda la reducción dependiente de energía del 3-fosfoglicerato hasta el nivel de carbohidrato. Por eso, para los mecanismos autótrofos se necesita dióxido de carbono, ATP, NADPH y un grupo de enzimas específicas.

Despolimerasas

Muchos sustratos potenciales para el crecimiento se encuentran en forma de bloques de construcción en la estructura de polímeros biológicos. Estas moléculas grandes no se transportan con facilidad por la membrana celular y a menudo permanecen fijas a estructuras celulares incluso más grandes. Muchos microorganismos producen despolimerasas que hidrolizan proteínas (p. ej., proteasas), ácidos nucleicos (p. ej., nucleasas),

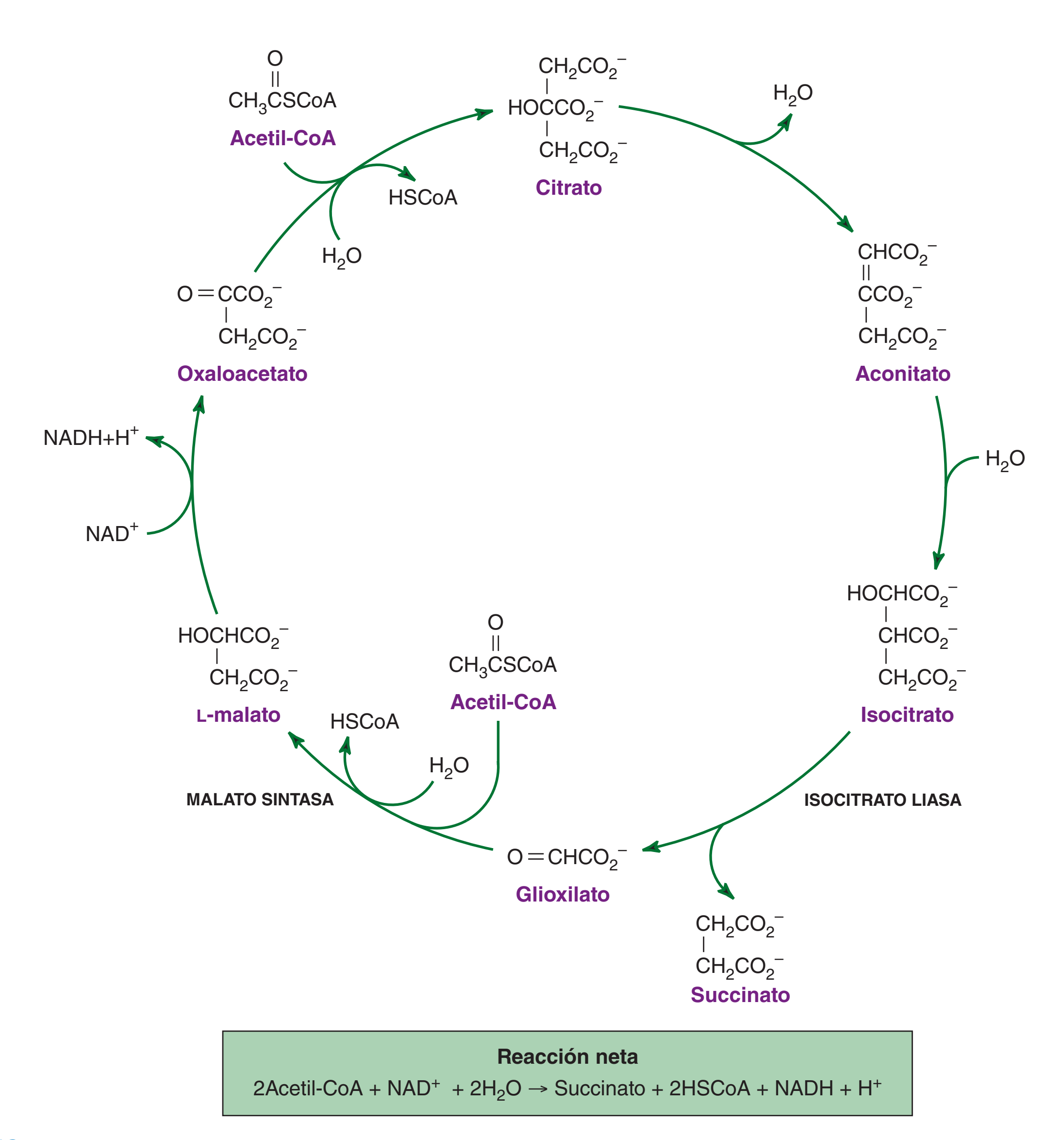


FIGURA 6-12 Ciclo del glioxilato. Obsérvese que las reacciones que convierten malato a isocitrato se comparten con el ciclo del ácido tricarboxílico (figura 6-11). La divergencia metabólica al nivel del isocitrato y la acción de dos enzimas, la isocitrato liasa y la malato sintasa, modifican el ciclo del ácido tricarboxílico de forma que por medio de reducción se convierten dos moléculas de acetil-CoA a succinato.

polisacáridos (p. ej., amilasa) y lípidos (p. ej., lipasas). El patrón de las actividades de despolimerasas puede ayudar a identificar microorganismos.

Oxigenasas

Muchos compuestos del medio ambiente son relativamente resistentes a la modificación enzimática; el aprovechamiento de estos compuestos como sustratos para el crecimiento exige una clase especial de enzimas, las oxigenasas. Tales enzimas utilizan directamente el oxígeno molecular, un oxidante potente, como sustrato para las reacciones que convierten compuestos relativamente intratables a una forma en la cual pueden asimilarse, lo que es favorecido por reacciones termodinámicas. En la figura 6-14 se ilustra la acción de las oxigenasas y se muestra la participación de dos oxigenasas diferentes en el aprovechamiento del benzoato.

Vías de reducción

Algunos microorganismos viven en entornos extremadamente reductores que favorecen reacciones químicas que no ocurrirían en organismos que utilizan oxígeno como aceptor de electrones. En estos organismos, pueden utilizarse reductores potentes para favorecer reacciones que permitan la asimilación de compuestos relativamente intratables. Un ejemplo es la asimilación por reducción del benzoato, un proceso en el cual el anillo aromático sufre reducción y se rompen sus enlaces para dar origen a pimelato de ácido dicarboxílico. Otras reacciones metabólicas convierten el pimelato a metabolitos focales.

Asimilación de nitrógeno

La asimilación reductiva de nitrógeno molecular, también conocida como **fijación de nitrógeno**, es indispensable para la continuación de la vida en este planeta. La fijación de nitrógeno

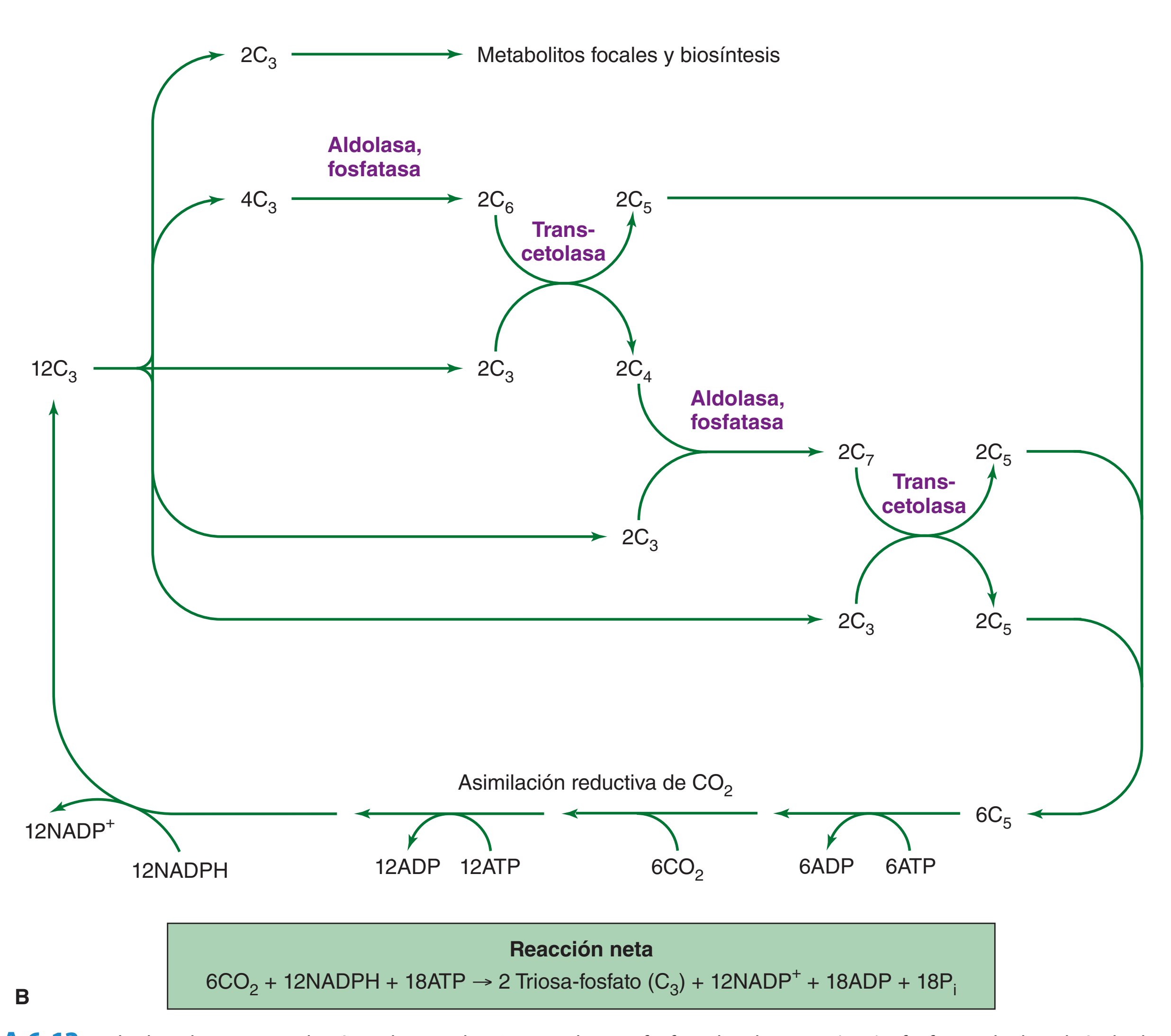


FIGURA 6-13 Ciclo de Calvin. **A:** Asimilación reductiva de CO_2. Se utilizan trifosfato de adenosina (ATP) y fosfatato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) para convertir por medio de reducción la pentosa 5-fosfato (C_5) a dos moléculas de triosa-fosfato (C_3). **B:** El ciclo de Calvin se completa con las reacciones de reordenamiento de carbohidratos (figura 6-6) que permite la síntesis neta de carbohidrato y la regeneración de fosfatos de pentosa de forma que puede continuar el ciclo. ADP, difosfato de adenosina.

se logra gracias a diversas bacterias y cianobacterias que utilizan varios componentes del **complejo enzimático de nitrogenasas**. Pese a los diversos microorganismos capaces de fijar nitrógeno, el complejo de nitrogenasas es similar en la mayor parte de ellos (figura 6-15). La nitrogenasa es un complejo de dos enzimas: una enzima contiene hierro (dinitrogenasa reductasa) y otra contiene hierro y molibdeno (dinitrogenasa). En conjunto, estas enzimas catalizan la siguiente reacción:

$$N_2 + 6H^+ + 6e^- + 12ATP \rightarrow 2NH_3 + 12ADP + 12P_i$$

Por la alta energía de activación para el desdoblamiento del triple enlace, que es muy fuerte y que une los dos átomos

FIGURA 6-14 Participación de las oxigenasas en la utilización aeróbica de benzoato como fuente de carbono. El oxígeno molecular participa directamente en las reacciones que rompen el anillo aromático de benzoato y catecol.

de nitrógeno, esta asimilación de reducción de nitrógeno exige una cantidad sustancial de energía metabólica. Se hidrolizan entre 20 y 24 moléculas de ATP para que se reduzca una sola molécula de N_2 a dos moléculas de NH_3.

Otras demandas fisiológicas se derivan del hecho de que la nitrogenasa se desactiva con facilidad en presencia de oxígeno. Los microorganismos aerobios que utilizan nitrogenasa han desarrollado un elaborado mecanismo para proteger la enzima contra la desactivación. Algunos microorganismos crean células especializadas en las cuales tienen lugar la fijación de nitrógeno y en otras se ha desarrollado una cadena de transporte de electrones que protegen las nitrogenasas contra la desactivación por el oxígeno. Las bacterias de mayor importancia en la agricultura son las Rhizobiaceae, que fijan nitrógeno en forma simbiótica en nódulos de la raíz de plantas leguminosas.

La capacidad de utilizar amoniaco como fuente de nitrógeno está muy distribuida entre los microorganismos. El sitio primario de entrada del nitrógeno en el metabolismo del carbono es el glutamato, el cual se forma por aminación reductiva de cetoglutarato α. Como se muestra en la figura 6-16, hay dos mecanismos bioquímicos por los cuales puede llevarse esto a cabo. El primero de ellos es, en un solo paso, la reducción catalizada por la glutamato deshidrogenasa (figura 6-16A), la

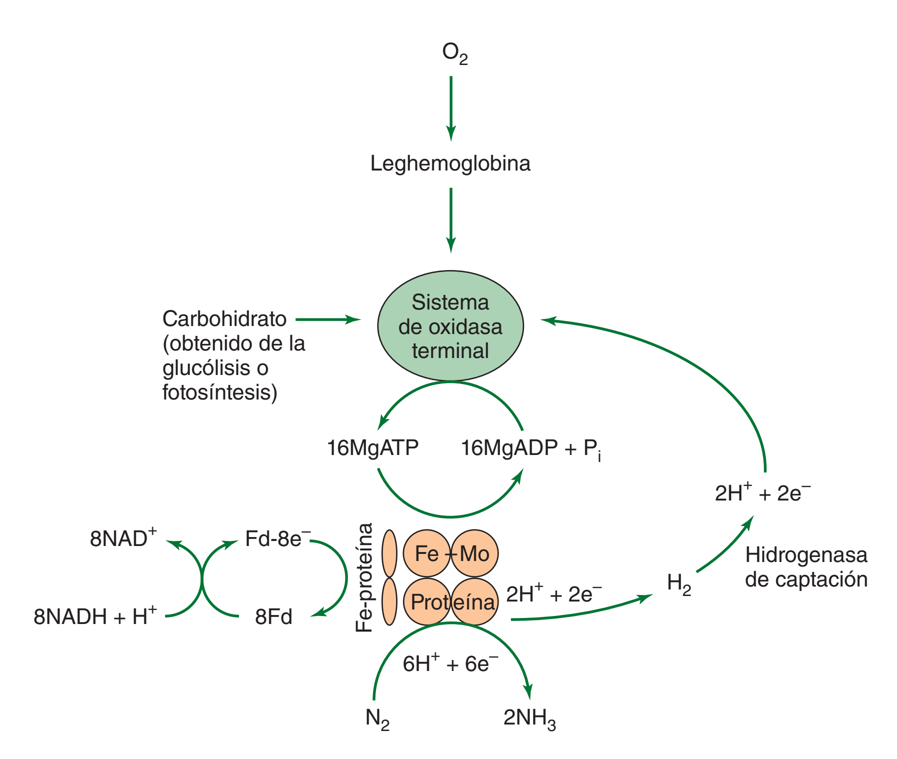


FIGURA 6-15 Reducción de N_2 a dos moléculas de NH_3. Además de ser reductora, la reacción de nitrogenasa necesita cantidades sustanciales de energía metabólica. Se desconoce el número de moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) indispensables para la reducción de una sola molécula de nitrógeno a amoniaco; la cifra parece encontrarse entre 12 y 16. La reacción general necesita 8 NADH (fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina) H^+. Seis de estas moléculas se utilizan para reducir N_2 a $2NH_3$ y dos se utilizan para la síntesis de H_2. La hidrogenasa de captación regresa H_2 al sistema, con lo que se conserva la energía. (Redibujada y reproducida con autorización de Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology,* 4a. ed. Wiley-Liss, 2002. Copyright © 2002 Wiley-Liss, Inc, Nueva York. Reservados todos los derechos.)

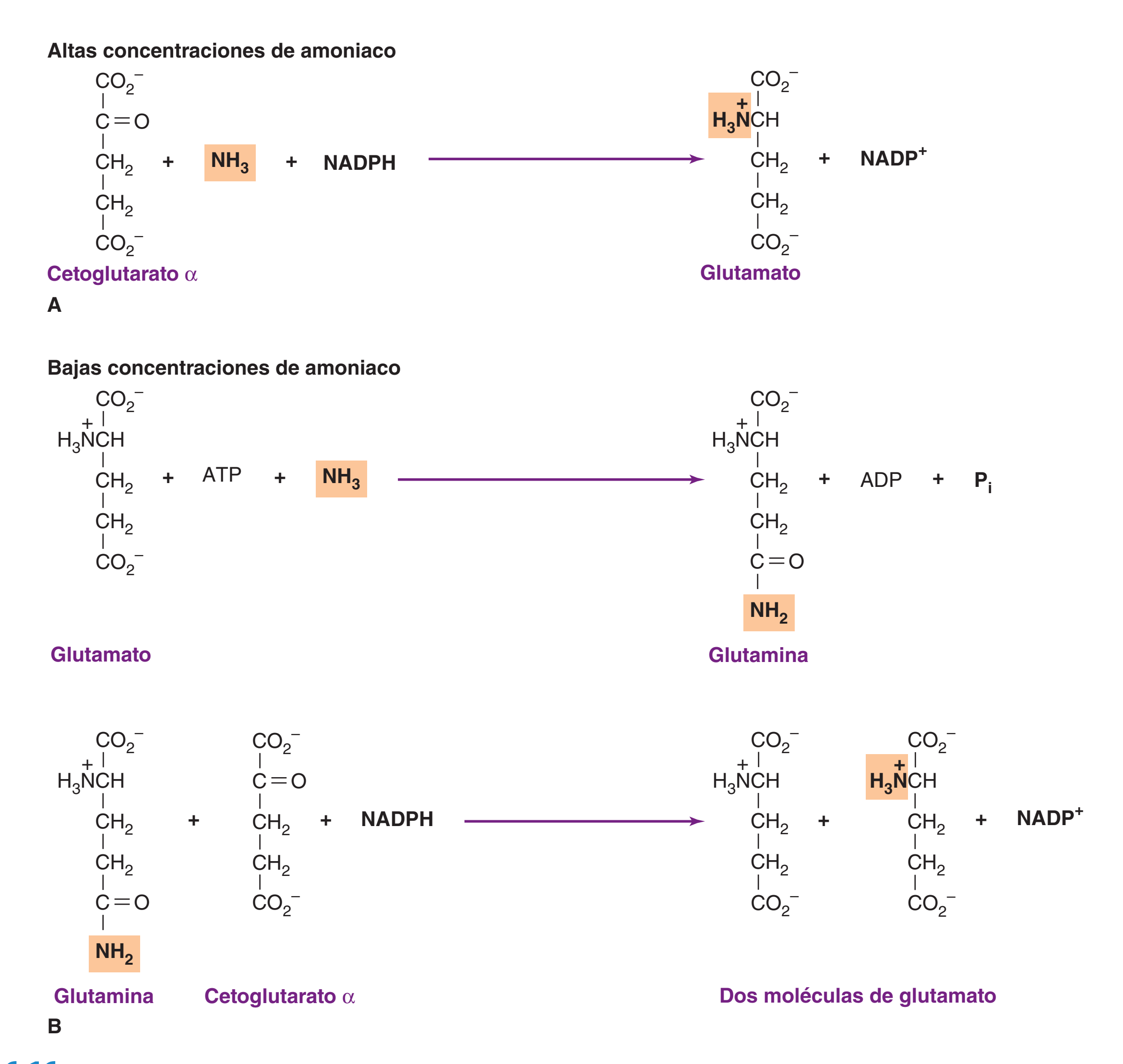


FIGURA 6-16 Mecanismos para la asimilación de NH_3. **A:** Cuando la concentración de NH_3 es alta, las células tienen la capacidad de asimilar el compuesto a través de reacciones de glutamato deshidrogenasa. **B:** Cuando la concentración de NH_3 es baja (lo que sucede con mucha frecuencia) las células acoplan las reacciones de glutamina sintasa y de glutamato sintasa para invertir la energía producida por la hidrólisis de enlaces de pirofosfato para la asimilación de amoniaco.

cual es eficaz en ambientes en los cuales existe un suministro abundante de amoniaco. El otro mecanismo es un proceso de dos pasos en el cual la glutamina es un producto intermedio (figura 6-16B), que se utiliza en ambientes con poco suministro de amoniaco. Este último mecanismo muestra que las células invierten energía libre formada por la hidrólisis de enlaces de pirofosfato en el ATP para la asimilación de amoniaco del medio ambiente.

El nitrógeno amida de la glutamina, un intermediario en el proceso de asimilación de dos pasos del amoniaco a glutamato (figura 6-16B), también se transfiere directamente en el nitrógeno orgánico que aparece en las estructuras de purinas, pirimidinas, arginina, triptófano y glucosamina. La actividad y síntesis de la glutamina sintasa está regulada por el suministro de amoniaco y por la disponibilidad de metabolitos que contengan nitrógeno derivado directamente del nitrógeno amida de la glutamina.

La mayor parte del nitrógeno orgánico de las células se deriva del grupo amino α del glutamato y la **transaminación** es el mecanismo principal por el cual se transfiere el nitrógeno. El aceptor habitual en estas reacciones es un cetoácido α, que se transforma al aminoácido α correspondiente. El cetoglutarato α es otro producto de reacciones de transaminación y puede convertirse en glutamato por aminación reductiva (figura 6-16).

VÍAS BIOSINTÉTICAS

Seguimiento de las estructuras de precursores biosintéticos: glutamato y aspartato

En muchos casos, los esqueletos de carbono de un producto metabólico terminal pueden rastrearse hasta sus orígenes biosintéticos. La glutamina, un ejemplo obvio, se deriva evidentemente del glutamato (figura 6-17). El esqueleto del glutamato en la estructura de arginina y prolina (figura 6-17) es menos obvio, pero se identifica con facilidad. De la misma forma, el esqueleto de carbono del aspartato, que se deriva directamente

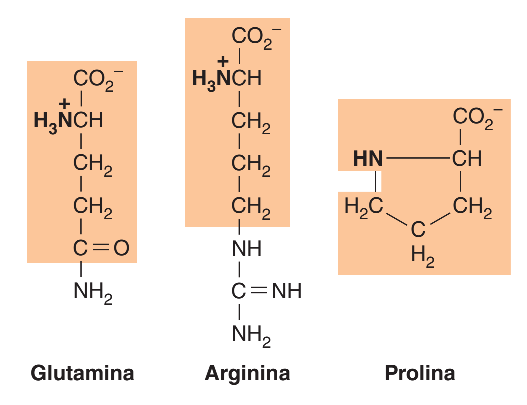


FIGURA 6-17 Aminoácidos formados de glutamato.

del metabolito focal oxaloacetato, es evidente en las estructuras de asparagina, treonina, metionina y pirimidinas (figura 6-18). En algunos casos, diferentes esqueletos de carbono se combinan en una vía sintética. Por ejemplo, el semialdehído de aspartato y el piruvato se combinan para dar origen a precursores metabólicos de lisina, ácido diaminopimélico y ácido dipicolínico (figura 6-19). Los dos últimos compuestos se encuentran sólo en células procariotas. El ácido diaminopimélico es componente del peptidoglucano en la pared celular, en tanto que el ácido dipicolínico constituye un componente importante en las endosporas.

Síntesis de peptidoglucano de la pared celular

En la figura 2-15 se muestra la estructura del peptidoglucano; en la figura 6-20A se muestra una forma simplificada del mecanismo por el cual se sintetiza. La síntesis de peptidoglucano inicia con una síntesis escalonada en el citoplasma de UDP-ácido *N*-acetilmurámico-pentapéptido. La *N*-acetilglucosamina se une en primer lugar al difosfato de uridina (UDP, *uridine diphosphate*) y luego se convierte a UDP-ácido *N*-acetilmurámico por condensación con fosfoenolpiruvato y reducción. Los aminoácidos del pentapéptido se añaden de manera secuencial, con cada adición catalizada por una enzima diferente, y cada una participa en el desdoblamiento de ATP a ADP + P_i.

El complejo UDP-ácido *N*-acetilmurámico-pentapéptido se une al bactoprenol (un lípido de la membrana celular) y recibe una molécula de *N*-acetilglucosamina de UDP. Algunas bacterias (p. ej., *Staphylococcus aureus*) forman un derivado pentaglicina en una serie de reacciones que utilizan glicil-tRNA

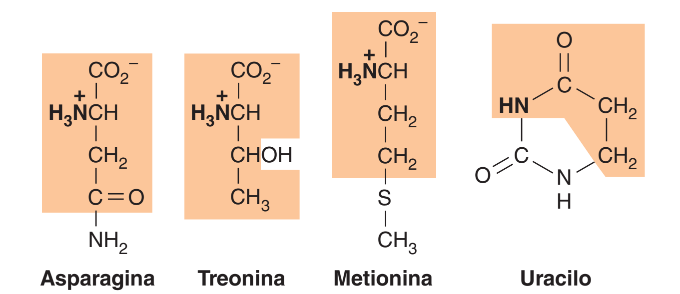


FIGURA 6-18 Productos biosintéticos terminales formados de aspartato.

como donador; el polisacárido completo se polimeriza a un intermediario oligomérico antes de ser transferido al extremo en crecimiento de un polímero de glucopéptido en la pared celular.

Los enlaces cruzados finales (figura 6-20B) se llevan a cabo por una reacción de transpeptidación en la cual el grupo amino libre del residuo de pentaglicina desplaza el residuo terminal D-alanina del pentapéptido vecino. La transpeptidación es catalizada por un grupo de enzimas denominadas proteínas de unión a la penicilina (PBP, *penicillin-binding proteins*), que producen la unión covalente de la penicilina y otros antibióticos β lactámicos en forma covalente debido en parte a similitudes estructurales entre estos antibióticos y precursores pentapeptídicos. Algunos PBP tienen actividad de transpeptidasa o carboxipeptidasas, y quizá sus tasas relativas controlan el grado de formación de enlaces cruzados en el peptidoglucano (un factor importante en la tabicación celular).

La vía biosintética es de particular importancia en la medicina porque proporciona la base para la acción antibacteriana selectiva de los fármacos quimioterapéuticos. A diferencia de las células hospedadoras, las bacterias no son isotónicas con los líquidos corporales. Su contenido se encuentra bajo altas presiones osmóticas y su viabilidad depende de que se conserve la integridad de la capa de peptidoglucano en la pared celular a lo largo del ciclo celular. Cualquier compuesto que inhiba algún paso en la biosíntesis de peptidoglucano ocasiona que la pared de la célula bacteriana en crecimiento se debilite con la destrucción subsiguiente de la célula. En la figura 6-20A y B se muestran los sitios de acción de varios antibióticos.

Síntesis de los lipopolisacáridos de la envoltura celular

En la figura 2-19 se muestra la estructura general de los lipopolisacáridos antigénicos de la envoltura celular de bacterias gramnegativas. La biosíntesis de grupos terminales de repetición, que proporciona a la envoltura celular su especificidad antigénica, se muestra en la figura 6-21. Obsérvese la similitud con la síntesis de peptidoglucano. En ambos casos, un grupo de subunidades se unen con un líquido transportador en la membrana y luego son transferidos a los extremos abiertos del polímero en crecimiento.

Síntesis de polímeros capsulares extracelulares

Los polímeros capsulares, de los cuales se enumeran unos cuantos ejemplos en el cuadro 2-2, se sintetizan por medios enzimáticos de subunidades activas. No ha intervenido en este proceso ningún transportador de lípidos unido a la membrana. La presencia de una cápsula a menudo está determinada por situaciones ambientales: por ejemplo, los dextranos y levanos sólo pueden sintetizarse si se utiliza el disacárido sacarosa (fructosa-glucosa) como la fuente de la subunidad apropiada y, por lo tanto, su síntesis depende de la presencia de sacarosa en el medio.

Síntesis de gránulos alimenticios de reserva

Cuando los nutrientes exceden las cantidades necesarias para el crecimiento, las bacterias convierten algunos nutrientes

FIGURA 6-19 Productos biosintéticos terminales formados de semialdehído de aspartato y piruvato.

a gránulos alimenticios de reserva. Los principales incluyen almidón, glucógeno, poli-β-hidroxibutirato y volutina, que consiste principalmente de polifosfato inorgánico (capítulo 2). El tipo de gránulo formado es específico de una especie dada. Los gránulos sufren degradación cuando hay agotamiento de los nutrientes exógenos.

PATRONES MICROBIANOS DEL METABOLISMO PARA LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA

Como se menciona en el capítulo 5, hay dos mecanismos metabólicos principales para la generación de enlaces de pirofosfato ácido ricos en energía en el ATP: **fosforilación del sustrato** (transferencia directa de enlaces de fosfato anhídrido a partir de un donador orgánico para el ADP) y la fosforilación de ADP por un fosfato inorgánico. Esta última reacción es desfavorable en términos energéticos y debe ser estimulada por un gradiente electroquímico transmembrana, la **fuerza motriz protónica**. En la respiración el gradiente electroquímico se crea a partir de oxidantes y reductores suministrados por el medio externo. La energía liberada por transferencia de electrones de sustancias reductoras a oxidantes a través de transportadores unidos a la membrana se acopla para la formación de un gradiente electroquímico transmembrana. En la fotosíntesis, la energía luminosa genera reductores y oxidantes relacionados con la membrana; la fuerza motriz protónica se genera a medida que estos transportadores de electrones regresan a un estado de equilibrio. Estos procesos se revisan más adelante.

Vías de fermentación

A. Estrategias para la fosforilación del sustrato

En ausencia de respiración o de fotosíntesis, las células dependen por completo de la fosforilación de sustrato para la producción de energía: la generación de ATP debe acoplarse con modificaciones químicas de compuestos orgánicos. Muchos compuestos pueden actuar como sustratos fermentables y para su fermentación varias vías han evolucionado. Estas vías tienen tres etapas generales: 1) conversión de un compuesto fermentable a un donador de fosfato por fosforilación del sustrato. Esta etapa a menudo contiene reacciones metabólicas en las cuales el NAD^+ se reduce a NADH. 2) Fosforilación de ADP por un donador de fosfato rico en energía. 3) Pasos metabólicos que llevan a los productos de la fermentación a un equilibrio químico con los materiales iniciales. Lo que suele necesitarse en esta última etapa es un mecanismo para la oxidación de NADH, generado en el primer paso de fermentación, a NAD^+, de forma que pueda continuar la fermentación. En la siguiente

apter 06_Carroll_4R.indd 94 14/04/16

1 Se sintetizan derivados UDP de NAM y NAG (no se muestra).

3 El complejo NAM-pentapéptido se transfiere al fosfato de bactoprenol. Se unen por medio de enlaces de pirofosfato.

4 El UDP transfiere NAG al complejo bactoprenol-NAM-pentapéptido. Si se necesita la interposición de pentaglicina, se crea con moléculas especiales de glicil-tRNA, pero no con ribosomas. La formación de puentes ocurre en la membrana.

2 Adición secuencial de aminoácidos a UDP-NAM para formar el complejo NAM-pentapéptido. Se utiliza ATP para favorecer la reacción, pero no participan el RNA y los ribosomas en la formación de enlaces peptídicos que unen los aminoácidos.

5 Los transportadores de bactoprenol transportan las unidades repetidas del complejo NAG-NAM pentapéptido a través de la membrana.

UDP—NAM
L-Ala
D-Glu
L-Lys (DAP)
D-Ala—D-Ala
L-Ala
D-Ala
Cicloserina
Lípido I
UDP—NAG
Lípido II
Citoplasma
UDP—NAM—Pentapéptido
Pentapéptido
P P—NAM
UDP
P P—NAM—NAG
P
UMP
Pi
Bactoprenol
Bacitracina
Membrana
Periplasma
P P
Peptidoglucano—NAM—NAG
Pentapéptido
Vancomicina
Peptidoglucano
P P—NAM—NAG
Pentapéptido

8 Los enlaces cruzados entre las cadenas de peptidoglucano se forman por transpeptidación (no se muestran).

7 El transportador bactoprenol se desplaza a través de la membrana. A medida que lo hace, pierde un fosfato y se convierte en fosfato de bactoprenol. Ahora está preparado para iniciar un nuevo ciclo.

6 El complejo NAG-NAM pentapéptido se une al extremo en crecimiento de la cadena de peptidoglucano, lo que aumenta la longitud de la cadena en repeticiones de una unidad.

A

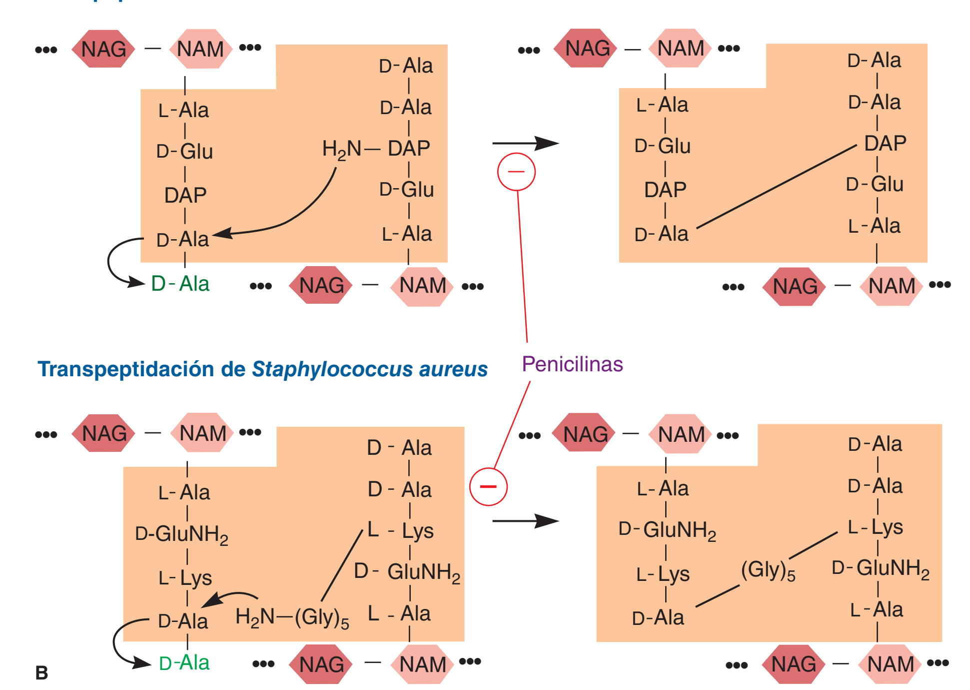


FIGURA 6-20 **A:** Síntesis de peptidoglucano. Los pentapéptidos contienen L-lisina en el peptidoglucano de *Staphylococcus aureus* y ácido diaminopimélico (DAP) en *Escherichia coli*. También se muestra la inhibición con bacitracina, cicloserina y vancomicina. Los números corresponden a seis de las ocho etapas revisadas en el texto. Se ilustra la etapa ocho en *B*. NAM corresponde a ácido *N*-acetilmurámico y NAG a *N*-acetilglucosamina; UDP, difosfato de uridina. **B:** Transpeptidación. Reacciones de transpeptidación en la formación de peptidoglucanos de *Escherichia coli* y *S. aureus*. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7a. ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

apter 06_Carroll_4R.indd 95 14/04/16

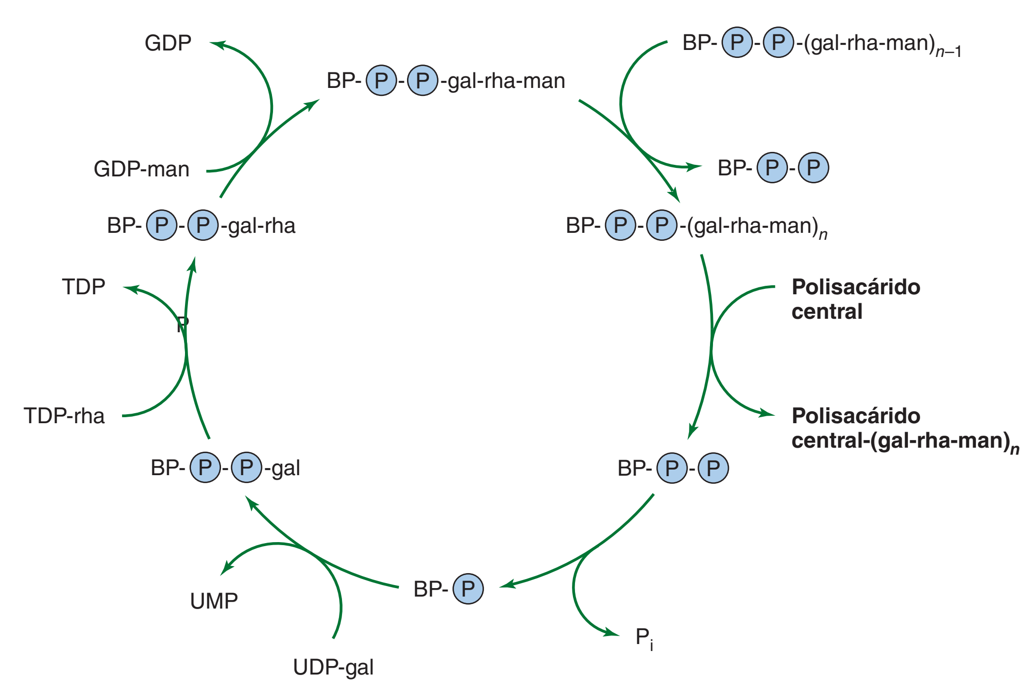


FIGURA 6-21 Síntesis de las unidades de repetición de las cadenas laterales de polisacáridos de *Salmonella newington* y su transferencia a los lipopolisacáridos. BP, bactroprenol; GDP, difosfato de guanosina; TDP, difosfato de timidina; UDP, difosfato de uridina; UMP, monofosfato de uridina.

sección se consideran ejemplos de cada una de las tres etapas de fermentación.

B. Fermentación de la glucosa

La diversidad de las vías de fermentación queda demostrada si se tienen en cuenta algunos de los mecanismos utilizados por los microorganismos para lograr la fosforilación del sustrato a expensas de la glucosa. En principio, la fosforilación de ADP a ATP puede acoplarse para alguna de dos transformaciones equilibradas en términos químicos:

$$\underset{(C_6H_{12}O_6)}{\text{Glucosa}} \longrightarrow \underset{(C_3H_6O_3)}{2 \text{ ácido láctico}}$$

o

$$\underset{(C_6H_{12}O_6)}{\text{Glucosa}} \longrightarrow \underset{(C_2H_6O)}{2 \text{ Etanol}} + \underset{(CO_2)}{2 \text{ Dióxido de carbono}}$$

Los mecanismos bioquímicos por medio de los cuales ocurren estas transformaciones pueden variar de manera considerable.

En general, la fermentación de la glucosa se inicia por la fosforilación a G6PD. Hay dos mecanismos por medio de los cuales ocurre esto: 1) la glucosa extracelular puede transportarse a través de la membrana citoplásmica hacia el interior de la célula donde más tarde se fosforila por el ATP para dar origen a G6PD y ADP. 2) En muchos microorganismos, la glucosa extracelular sufre fosforilación a medida que se transporta a través de la membrana citoplásmica por un sistema enzimático que produce la fosforilación extracelular de la glucosa a expensas de fosfoenolpiruvato, lo que da origen a G6PD y piruvato intracelulares. Este último proceso es un ejemplo de **metabolismo vectorial**, un grupo de reacciones bioquímicas en las cuales se alteran la estructura y ubicación del sustrato (capítulo 2). Cabe hacer notar que la elección de ATP o de fosfoenolpiruvato como agente de fosforilación no altera la cantidad de ATP producido por la fermentación porque el fosfoenolpiruvato se utiliza como fuente de ATP en etapas avanzadas de la fermentación (figura 6-8).

C. Vía de Embden-Meyerhof

Esta vía (figura 6-22) que con frecuencia se encuentra como mecanismo para la fermentación de la glucosa, utiliza una cinasa y una aldolasa (figura 6-6) para transformar el fosfato de hexosa (C_6) a dos moléculas de fosfato de triosa (C_3). Hay cuatro reacciones de fosforilación del sustrato que acompañan la conversión de la triosa-fosfato a dos moléculas de piruvato. Así, si se tienen en consideración los dos enlaces de pirofosfato de ATP necesarios para la formación de triosa-fosfato a partir de glucosa, la vía de Embden-Meyerhof produce una cantidad neta de dos enlaces de pirofosfato de ATP. La formación de piruvato a partir de triosa-fosfato es un proceso oxidativo en el cual se forma NADH en el primer paso metabólico (figura 6-22) que debe convertirse a NAD^+ para que continúe la fermentación; en la figura 6-23 se ilustran dos mecanismos simples para lograr este objetivo. La reducción directa de piruvato por NADH produce lactato como producto terminal de la fermentación, lo que da origen a la acidificación del medio. El piruvato también puede ser descarboxilado para formar acetaldehído, que después se utiliza para oxidar el NADH, lo que da origen a la producción del etanol, un producto neutro. La vía tomada depende de los antecedentes evolutivos del microorganismo y, en algunos microorganismos, de las condiciones de crecimiento.

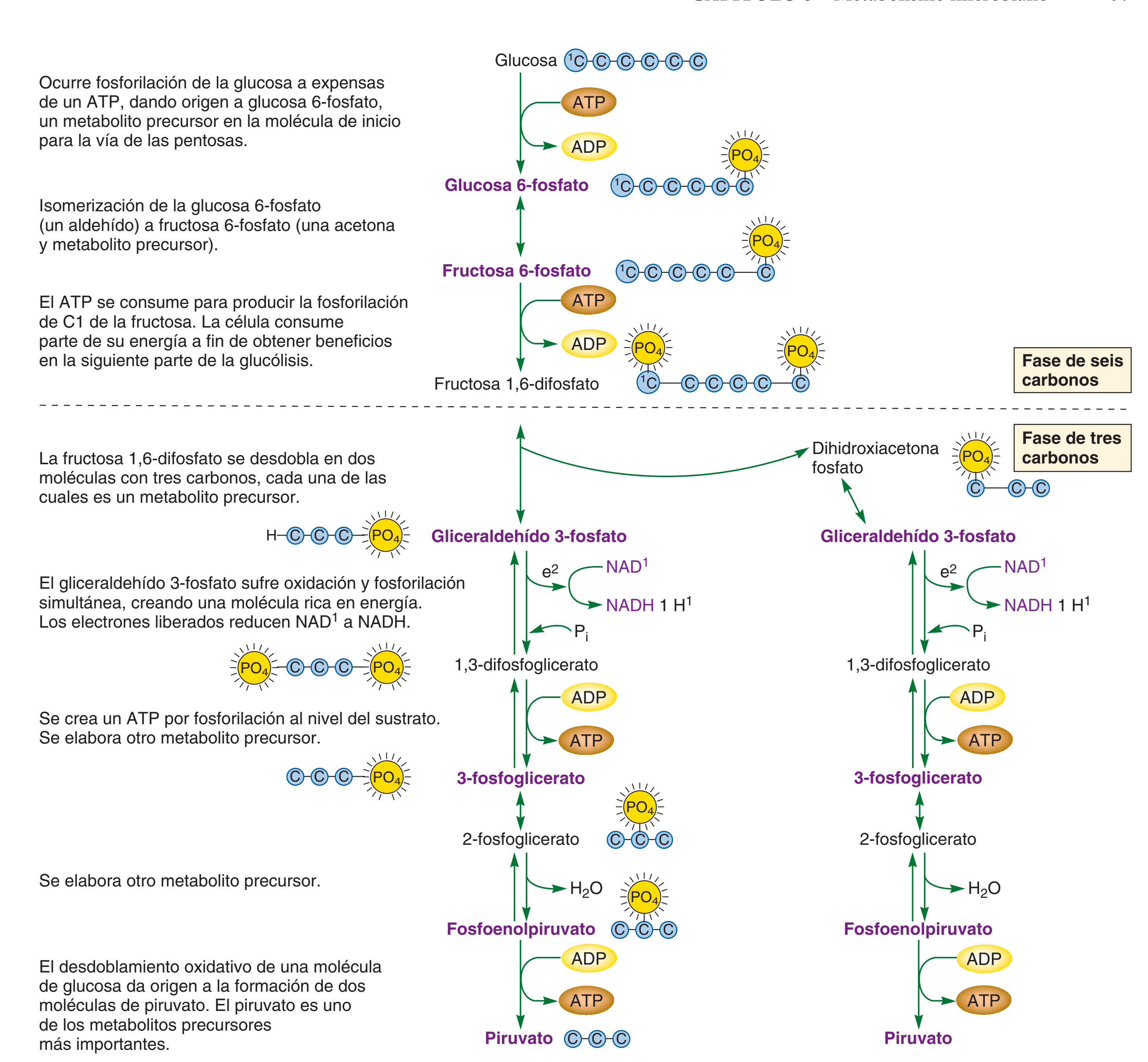


FIGURA 6-22 Vía de Embden-Meyerhof. Esta es una de tres vías glucolíticas que se utilizan para catabolizar la glucosa a piruvato y puede funcionar durante la respiración aerobia, anaerobia y la fermentación. Cuando se utiliza durante el proceso respiratorio, las moléculas de NAD^+ (fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina) aceptan los electrones y se transfieren a la cadena de transporte de electrones donde finalmente son aceptadas por un aceptor exógeno de electrones. Cuando se utilizan durante la fermentación, los electrones aceptados por NAD^+ son donados a un aceptor endógeno de electrones (p. ej., piruvato). La vía de Embden-Meyerhof también es una vía anfibólica importante, porque genera varios metabolitos precursores (que se muestran en azul). ADP, adenosindifosfato; ATP, adenosintrifosfato. Reimpresa con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7a. ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

D. Fermentaciones de Entner-Doudoroff y de heterolactato

Las vías alternativas para la fermentación de glucosa incluyen algunas acciones enzimáticas especializadas, que se muestran en la figura 6-24. La vía de Entner-Doudoroff difiere de otras vías del metabolismo de carbohidratos por una deshidratación de 6-fosfogluconato seguido de una reacción de aldolasa que produce piruvato y triosa-fosfato (figura 6-24A). La fermentación de heterolactato y algunas otras vías de fermentación dependen de una reacción de fosfocetolasa (figura 6-24B) que produce el desdoblamiento fosforolítico de cetosafosfato para producir acetil fosfato y triosa-fosfato. El anhídrido ácido de acetil fosfato puede utilizarse para la síntesis de ATP o puede permitir la oxidación de dos moléculas de NADH a NAD^+ como ocurre con la reducción hacia etanol.

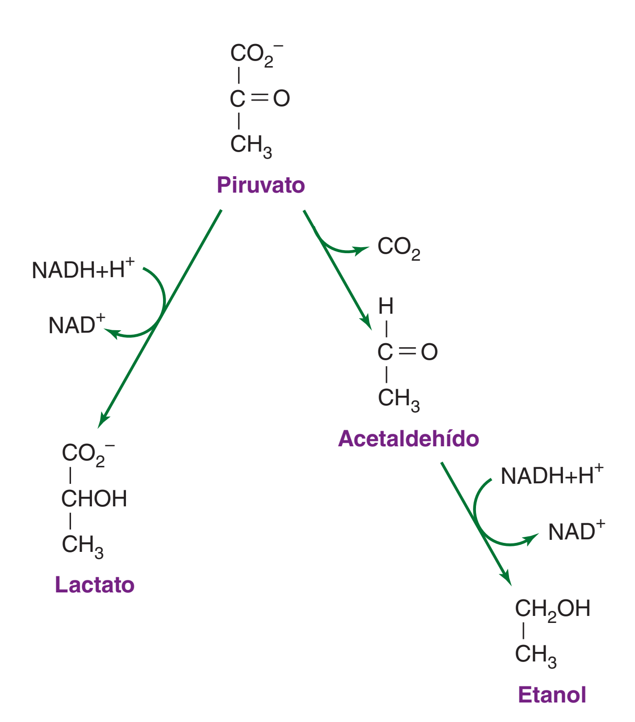


FIGURA 6-23 Dos mecanismos bioquímicos por los cuales el piruvato puede producir oxidación de NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina híbrido). **Izquierda:** Formación directa de lactato, lo que da origen a la producción neta de ácido láctico a partir de glucosa. **Derecha:** Formación de productos neutrales como dióxido de carbono y etanol.

En las figuras 6-25 y 6-26 se muestran las generalidades de las vías de Entner-Doudoroff y de heterolactato. Mediante estas vías se produce sólo una molécula de triosa-fosfato a partir de glucosa y, por lo tanto, la energía obtenida es baja. A diferencia de la vía de Embden-Meyerhof, las vías de Entner-Doudoroff y heterolactato producen sólo un sustrato neto de fosforilación de ADP por molécula de glucosa fermentada. ¿Por qué se han elegido vías alternativas para la fermentación de glucosa en el ambiente natural? Para responder esta pregunta deben tenerse en mente dos hechos. En primer lugar, en la competencia directa por la proliferación de dos especies microbianas, la tasa de aprovechamiento del sustrato puede ser más importante que la cantidad de crecimiento. En segundo lugar, la glucosa es uno de los varios carbohidratos encontrados por los microorganismos en su ambiente natural. Por ejemplo, las pentosas pueden ser fermentadas con bastante eficiencia por la vía de heterolactato.

E. Variaciones adicionales en la fermentación de carbohidratos

Las vías para la fermentación de carbohidratos pueden dar cabida a diversos sustratos que se describen a continuación, y los productos terminales pueden ser más diversos de lo que podría sugerirse. Por ejemplo, hay numerosos mecanismos para la oxidación de NADH a expensas de piruvato. Una de tales vías es la formación de succinato por reducción. Muchas bacterias de importancia clínica producen piruvato a partir de

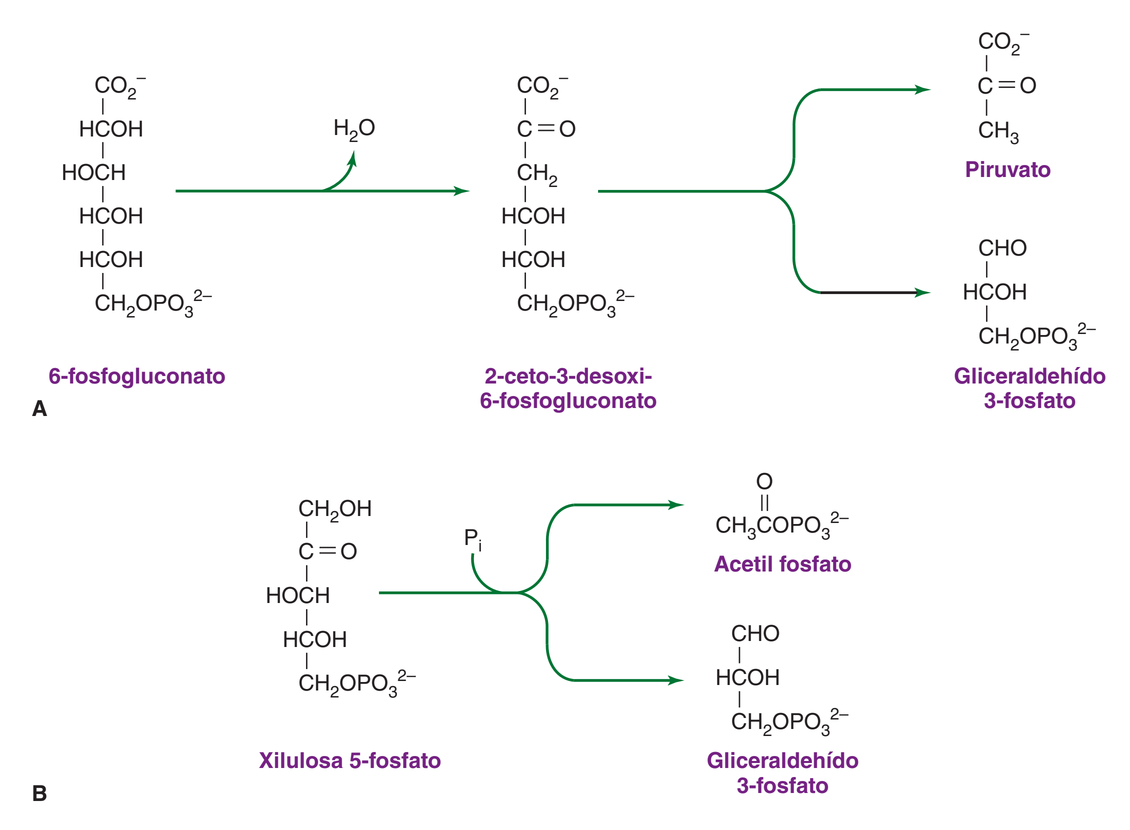


FIGURA 6-24 Reacciones asociadas a vías específicas de la fermentación de carbohidratos. **A:** Reacciones de deshidratasa y aldolasa utilizadas en la vía de Entner-Doudoroff. **B:** Reacción de fosfocetolasa. Esta reacción, que se encuentra en varias vías para la fermentación de carbohidratos, genera la mezcla de ácidos anhídridos acetil fosfato, que pueden utilizarse como sustrato en la fosforilación de difosfato de adenosina (ADP).

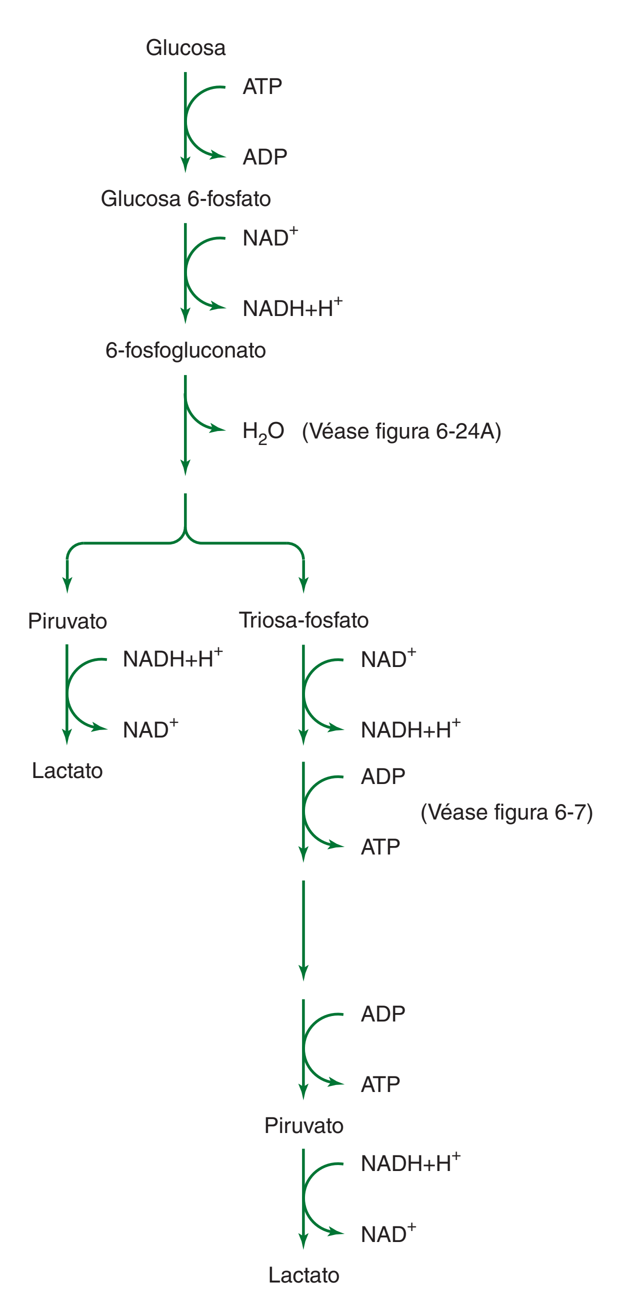


FIGURA 6-25 Vía de Entner-Doudoroff. ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina.

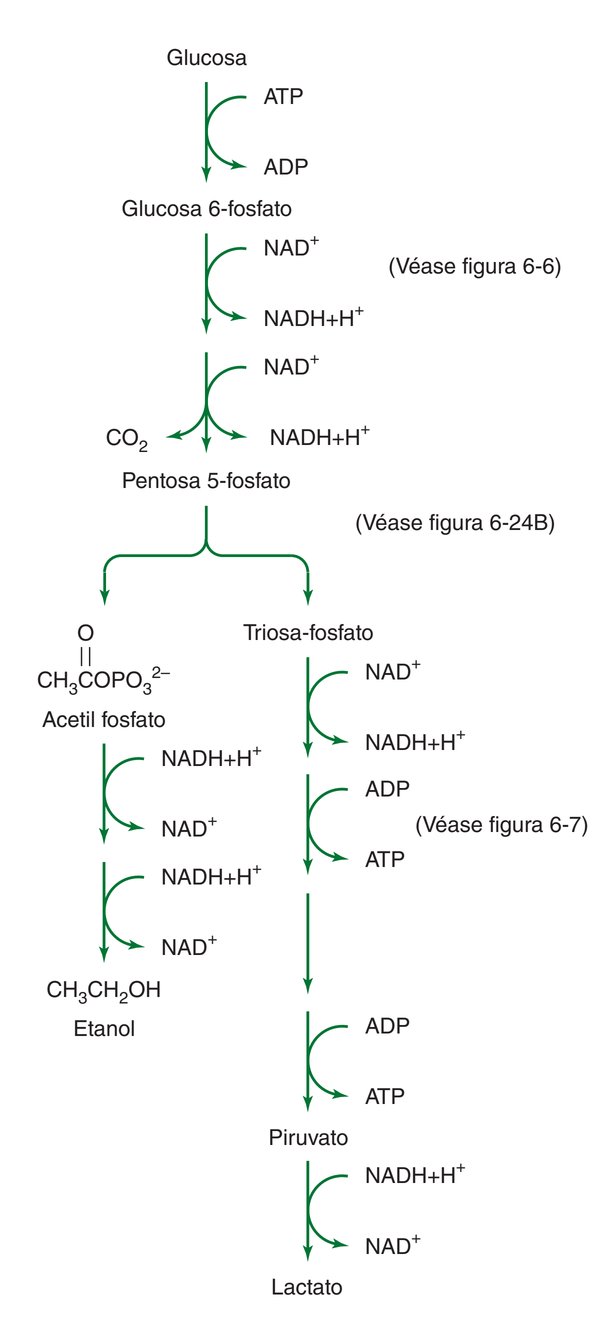


FIGURA 6-26 Fermentación heteroláctica de la glucosa. ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina.

la glucosa por medio de la vía de Embden-Meyerhof y deben diferenciarse con base en los productos de reducción formados a partir de piruvato, lo que refleja la constitución enzimática de las diferentes especies. Los principales productos de fermentación, enumerados en el cuadro 6-1, forman la base de muchas pruebas diagnósticas que se utilizan en el laboratorio clínico.

F. Fermentación de otros sustratos

Los carbohidratos no son, de ninguna manera, el único sustrato susceptible de fermentación. El metabolismo de aminoácidos, purinas y pirimidinas puede permitir la fosforilación del sustrato. Por ejemplo, la arginina puede actuar como fuente energética para dar origen a fosfato de carbamoil, que puede utilizarse para fosforilar el ADP a ATP. Algunos microorganismos fermentan pares de aminoácidos, y utilizan a uno como donador de electrones y al otro como aceptor.

Patrones de respiración

La respiración necesita una membrana cerrada. En las bacterias, la membrana es la membrana celular. Los electrones pasan de un reductor químico a un oxidante químico a través de un grupo específico de transportadores de electrones en la membrana y como consecuencia se establece la fuerza motriz protónica (figura 6-27); el retorno de protones a través de la membrana se acopla con la síntesis de ATP. Como se sugiere en la figura 6-27, el reductor biológico para la respiración con frecuencia es NADH y el oxidante a menudo es el oxígeno.

CUADRO 6-1 Fermentación microbiana con base en la vía de Embden-Meyerhof

Fermentación	Microorganismo	Producto
Etanol	Algunos hongos (sobre todo algunas levaduras)	Etanol, CO_2
Lactato (homofermentación)	*Streptococcus* Algunas bacterias del género *Lactobacillus*	Lactato (compone al menos 90% de la fuente energética de carbono)
Lactato (heterofermentación)	*Enterobacter, Aeromonas, Bacillus polymyxa*	Etanol, acetoína, 2,3-butilenglicol, CO_2, lactato, acetato, formato (ácidos totales = 21 mol)[a]
Propionato	*Clostridium propionicum, Propionibacterium, Corynebacterium diphtheriae* Algunas bacterias de los géneros *Neisseria, Veillonella, Micromonospora*	Propionato, acetato, succinato, CO_2
Ácidos mixtos	*Escherichia, Salmonella, Shigella, Proteus*	Lactato, acetato, formato, succinato, H_2, CO_2, etanol (ácidos totales = 159 mol)[a]
Butanol-butirato	*Butyribacterium, Zymosarcina maxima* Algunas bacterias del género *Clostridium*	Butanol, butirato, acetona, isopropanol, acetato, etanol, H_2, CO_2

[a] Por 100 mol de glucosa fermentada.

En las fuentes de reductores utilizados para generar NADH se observa una sorprendente diversidad microbiana y muchos microorganismos pueden utilizar aceptores de electrones diferentes al oxígeno. Los sustratos para el crecimiento orgánico se convierten a metabolitos focales que pueden reducir NAD^+ a NADH ya sea por la vía de monofosfato de hexosa (figura 6-7) o por el ciclo del ácido tricarboxílico (figura 6-11). Pueden generarse otros reductores durante el desdoblamiento de algunos sustratos de crecimiento, por ejemplo, ácidos grasos (figura 6-10).

Algunas bacterias, conocidas como **quimiolitótrofas**, son capaces de utilizar reductores inorgánicos para la respiración. Estas fuentes energéticas incluyen hidrógeno, hierro ferroso y varias formas reducidas de azufre y nitrógeno. El ATP obtenido por la respiración y el NADPH generado por los reductores pueden utilizarse para favorecer el ciclo de Calvin (figura 6-13).

Los iones y compuestos diferentes al O_2 pueden servir como oxidantes terminales en la respiración. Esta capacidad, es decir, la **respiración anaerobia**, es un rasgo microbiano muy generalizado. Los aceptores adecuados para los electrones incluyen nitrato, sulfato y dióxido de carbono. El metabolismo respiratorio que depende de dióxido de carbono como aceptor de electrones es una propiedad que se encuentra en un gran grupo de microbios, las **arqueobacterias**. Los microorganismos de este grupo tienen, por ejemplo, la capacidad de reducir dióxido de carbono a acetato como un mecanismo para la generación de energía metabólica.

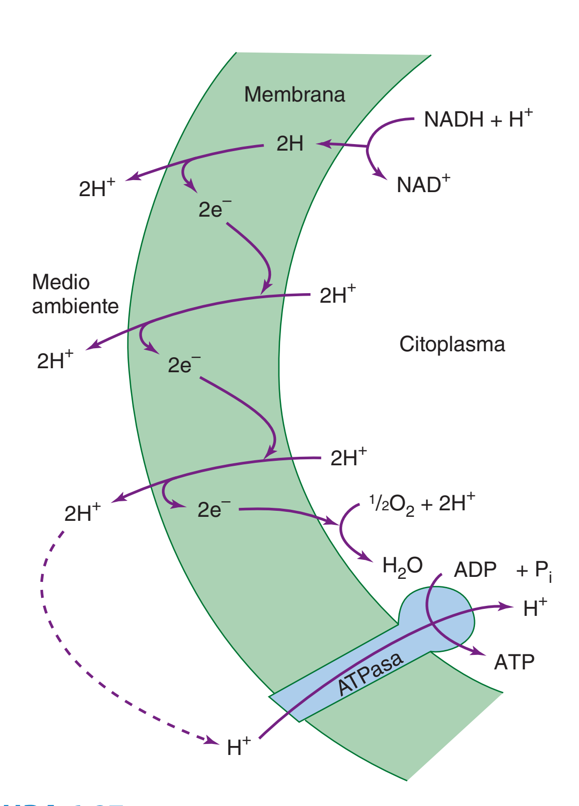


FIGURA 6-27 Acoplamiento del transporte de electrones en la respiración para la generación de trifosfato de adenosina (ATP). Los movimientos indicados de protones y electrones están mediados por transportadores (flavoproteínas, quinona, citocromos) relacionados con la membrana. El flujo de protones sigue un gradiente electroquímico, a través de la ATPasa de membrana, proporcionando la energía para la generación de ATP a partir de ADP y P_i. Véase el texto para explicaciones.

Fotosíntesis bacteriana

Los organismos fotosintéticos utilizan energía luminosa para separar la carga electrónica y crear reductores y oxidantes relacionados con la membrana como consecuencia de un evento fotoquímico. La transferencia de electrones de reductores a oxidantes crea una fuerza motriz protónica. Muchas bacterias llevan a cabo el metabolismo fotosintético sin depender en lo absoluto del oxígeno. La energía luminosa se utiliza como fuente de energía metabólica y el carbono para el crecimiento se obtiene ya sea a partir de compuestos orgánicos (**fotoheterótrofos**) o a partir de la combinación de reductores inorgánicos (p. ej., tiosulfato) y dióxido de carbono (**fotolitótrofos**). Estas bacterias tienen un sistema único que, aunque es suficiente para proporcionar energía para la síntesis de ATP y para la generación de gradientes iónicos transmembrana esenciales,

no permite la reducción muy exergónica de $NADP^+$ a expensas de agua. Dicho proceso, esencial para la fotosíntesis a partir de oxígeno, depende de la energía adicional suministrada proveniente del acoplamiento de dos eventos fotoquímicos distintos estimulados por dos sistemas fotoquímicos independientes. En las células procariotas esta característica se encuentra sólo en las cianobacterias (bacterias azul-verdosas). Entre los microorganismos eucariotas, el rasgo es compartido por algas y plantas en las cuales el organelo esencial para la producción de energía es el cloroplasto.

REGULACIÓN DE LAS VÍAS METABÓLICAS

En su ambiente normal, las células microbianas por lo general regulan sus vías metabólicas de forma que no se produzcan productos intermedios en cantidades excesivas. Cada reacción metabólica no sólo es regulada respecto a las demás en la célula, sino también respecto a las concentraciones de nutrientes en el medio ambiente. Por eso, cuando una fuente de carbono disponible en forma esporádica súbitamente se encuentra en cantidades abundantes, las enzimas necesarias para su catabolismo se incrementan tanto en cantidad como en actividad; por el contrario, cuando un bloque de construcción (p. ej., un aminoácido) se encuentra de manera súbita en cantidades abundantes, las enzimas necesarias para su biosíntesis disminuyen tanto en cantidad como en actividad.

La regulación de la actividad y síntesis enzimáticas proporciona **control fino** y **control grueso** de las vías metabólicas. Por ejemplo, la inhibición de la actividad enzimática por un producto secundario de una vía constituye un mecanismo de control fino, porque el flujo de carbono a través de dicha vía se regula de manera instantánea y con precisión. La inhibición de la síntesis enzimática por el mismo producto terminal, por otro lado, constituye un mecanismo de control grueso. Las moléculas preexistentes de enzima continúan funcionando hasta que se diluyen a causa del crecimiento celular adicional, aunque la síntesis proteínica innecesaria se interrumpe de inmediato.

Los mecanismos por los cuales la célula regula la actividad enzimática se revisan en la siguiente sección. En el capítulo 7 se revisa la regulación de la síntesis enzimática.

Regulación de la actividad enzimática

A. Enzimas como proteínas alostéricas

En muchos casos, la actividad de una enzima que cataliza un paso metabólico temprano en la vía metabólica es inhibida por un producto terminal de dicha vía. Sin embargo, tal inhibición no puede depender de la competencia por el sustrato enzimático porque la estructura del producto terminal y el intermediario temprano (sustrato) por lo común son bastante diferentes. Más bien, la inhibición depende de la regulación enzimática **alostérica**: cada enzima posee un sitio catalítico que se une al sustrato, pero también tiene uno o más sitios que se unen a moléculas reguladoras pequeñas, conocidas como **efectores**. La unión de un efector a su sitio causa un cambio conformacional en la enzima de forma tal que la afinidad del sitio catalítico para el sustrato se reduce (inhibición alostérica) o se incrementa (activación alostérica).

Las proteínas alostéricas por lo común son oligoméricas. En algunos casos las subunidades son idénticas; cada subunidad posee un sitio catalítico y un sitio efector. En otros casos, las subunidades son bastante diferentes y un tipo posee sólo un sitio catalítico y la otra sólo un sitio efector.

B. Inhibición por retroalimentación

El mecanismo general por el cual ha evolucionado en los microorganismos la regulación del flujo de carbono a través de vías biosintéticas es el más eficiente que se pueda imaginar. El producto terminal en cada caso produce inhibición alostérica de la actividad de la primera (y sólo de la primera) enzima en la vía metabólica. Por ejemplo, el primer paso en la biosíntesis de isoleucina en el que no participa ninguna otra vía es la conversión de L-treonina a ácido cetobutírico α, que es catalizado por la treonina desaminasa. La treonina desaminasa es inhibida de manera específica y alostérica por la L-isoleucina y por ningún otro compuesto (figura 6-28); las otras cuatro enzimas de la vía no se ven afectadas (aunque su síntesis se reprime).

C. Activación alostérica

En algunos casos, es conveniente para la célula y para un producto terminal o producto intermedio activar en lugar de inhibir una enzima en particular. En el desdoblamiento de la glucosa por *E. coli,* por ejemplo, la producción excesiva del intermediario G6PD y fosfoenolpiruvato ocasiona la desviación de algunas moléculas de glucosa a la vía de síntesis de glucógeno; esto se realiza por la activación alostérica de la enzima que convierte las moléculas de glucosa 1-fosfato a ADP-glucosa (figura 6-29).

D. Cooperatividad

Muchas enzimas oligoméricas, que poseen más de un sitio de unión al sustrato, muestran interacciones cooperativas de las moléculas de sustrato. La unión del sustrato con un sitio catalítico incrementa la afinidad de los otros sitios para moléculas adicionales de sustrato. El efecto neto de esta interacción es producir un incremento exponencial de la actividad catalítica en respuesta al incremento aritmético de la concentración de sustrato.

E. Modificación covalente de las enzimas

Las propiedades reguladoras de algunas enzimas se alteran por modificaciones covalentes de la proteína. Por ejemplo, la respuesta de la glutamina sintetasa a los efectores metabólicos se altera por la adenililación, la unión covalente de ADP a una cadena lateral específica de tirosilo con cada subunidad enzimática. Las enzimas que controlan la adenililación también se controlan por modificaciones covalentes. La actividad de otras enzimas se altera por su fosforilación.

F. Desactivación enzimática

La actividad de algunas enzimas se elimina por medio de su hidrólisis. El proceso puede ser regulado y en ocasiones señalado por la modificación covalente de la enzima que constituye el blanco de la eliminación.

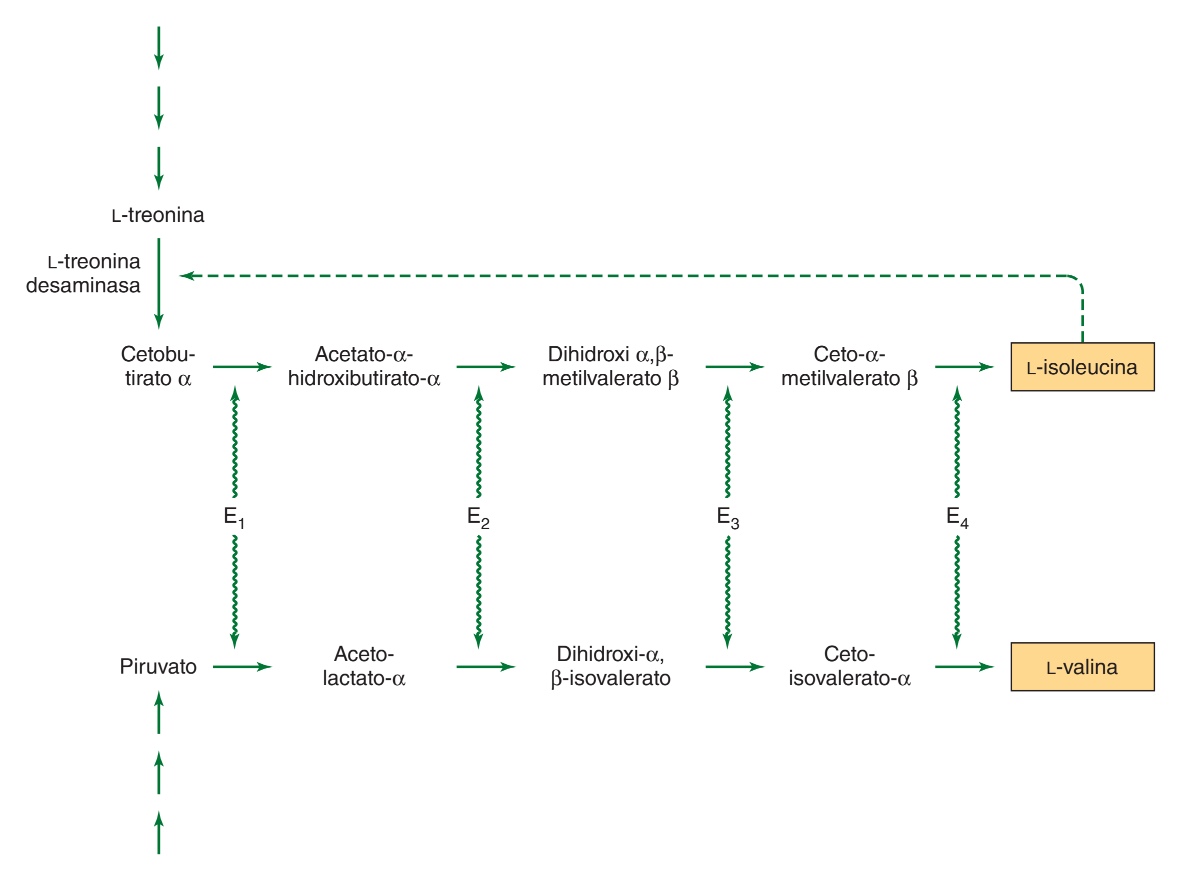


FIGURA 6-28 Inhibición por retroalimentación de la L-treonina desaminasa por la L-isoleucina (*línea punteada*). Las vías para la biosíntesis de isoleucina y valina son mediadas por un grupo común de cuatro enzimas, como se muestra.

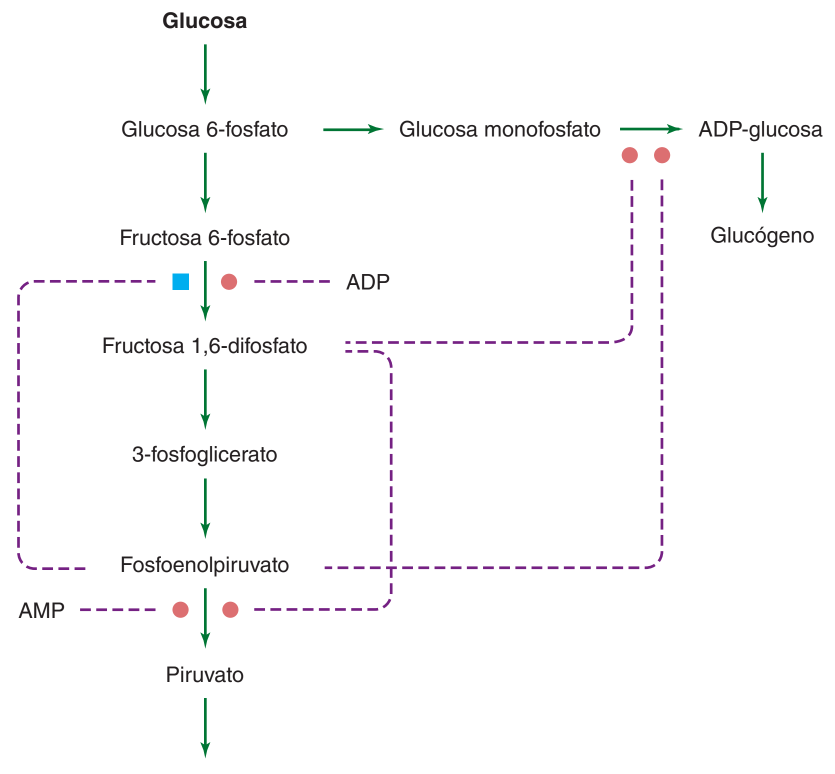


FIGURA 6-29 Regulación de la utilización de glucosa por una combinación de activación alostérica (●) e inhibición alostérica (■). AMP, monofosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina. (Reproducida con autorización de Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL: *The Microbial World,* 4a. ed. Prentice-Hall, 1976. Reproducida impresa y en forma electrónica con autorización de Pearson Education, Inc., Nueva York, Nueva, York.)

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- El metabolismo tiene dos componentes, catabolismo y anabolismo. El catabolismo consta de procesos que albergan energía procedente de la degradación de los compuestos y utilizan esa energía para sintetizar ATP. El anabolismo, o biosíntesis, consta de procesos que aprovechan la energía almacenada en el ATP para sintetizar las subunidades (o bloques para la construcción) de macromoléculas que forman la célula.
- El origen biosintético de los bloques de construcción data de unos cuantos precursores, llamados metabolitos focales.
- La biosíntesis de peptidoglucanos es exclusiva de las bacterias. Para aniquilar las bacterias, algunos antibióticos inhiben de manera selectiva ciertos pasos en la biosíntesis de peptidoglucano.
- Las vías de Embden-Meyerhof, Entner-Doudoroff y de heterolactato son tres vías utilizadas para el catabolismo de la glucosa en las bacterias. El patrón de los productos terminales es una característica utilizada para identificar las diversas especies bacterianas.
- En ausencia de respiración o fotosíntesis, las bacterias dependen por completo de la fosforilación del sustrato para obtener energía.
- Para que la vida continúe en nuestro planeta es necesaria la asimilación reductiva de nitrógeno molecular (o fijación de nitrógeno). Se trata de un proceso altamente energético que llevan a cabo diversas bacterias y cianobacterias con el uso de un complejo de multicomponentes de la enzima nitrogenasa.
- La regulación de la actividad enzimática proporciona tanto control fino como control grueso de las vías metabólicas para que no se elabore ningún producto intermedio en exceso.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿La síntesis de cuál de los siguientes compuestos celulares depende de una plantilla?
   (A) Lipopolisacárido
   (B) Peptidoglucano
   (C) Polisacárido capsular
   (D) Ácido desoxirribonucleico
   (E) Fosfolípidos
2. ¿La síntesis de cuál de los siguientes componentes celulares depende por completo de especificidad enzimática?
   (A) DNA
   (B) DNA ribosómico
   (C) Flagelos
   (D) Lipopolisacárido
   (E) Proteína
3. Los pasos que conducen a la síntesis de peptidoglucanos ocurren en el citoplasma, en la membrana citoplásmica y fuera de la célula. ¿Qué antibióticos inhiben el paso extracelular en la biosíntesis de peptidoglucanos?
   (A) Cicloserina
   (B) Rifampicina
   (C) Penicilina
   (D) Bacitracina
   (E) Estreptomicina
4. Los aminoácidos se encuentran en las proteínas, péptido glucanos y cápsula bacteriana. ¿Cuál de los siguientes aminoácidos se encuentra en el peptidoglucano?
   (A) L-lisina
   (B) Ácido diaminopimélico
   (C) D-glutamato
   (D) L-alanina
   (E) Ninguno de los anteriores
5. La capacidad de usar iones y compuestos diferentes al oxígeno como oxidantes terminales en la respiración es un rasgo microbiano amplio. Esta capacidad se conoce como
   (A) Fotosíntesis
   (B) Fermentación
   (C) Respiración anaerobia
   (D) Fosforilación de sustrato
   (E) Fijación de nitrógeno
6. La vía principal para la asimilación del carbono que utilizan los microorganismos que pueden usar CO_2 como única fuente de carbono es:
   (A) Derivación hexosa monofosfato
   (B) Vía de Entner-Doudoroff
   (C) Vía de Embden-Meyerhoff
   (D) Ciclo de glucoxalato
   (E) Ciclo de Calvin
7. La vía biosintética del péptidoglucano es particularmente importante en la medicina porque proporciona la base para la acción antibacteriana selectiva de muchos medicamentos. Los antibióticos siguientes inhiben ciertos pasos en la biosíntesis del peptidoglucano, EXCEPTO:
   (A) Cicloserina
   (B) Vancomicina
   (C) Bacitracina
   (D) Estreptomicina
   (E) Penicilina
8. La regulación de la actividad enzimática permite la regulación fina de las vías metabólicas. ¿Cuál de los siguientes mecanismos reguladores permite la regulación fina de una vía biosintética?
   (A) Represión de catabolitos
   (B) Inducción
   (C) Inhibición de la retroalimentación
   (D) Atenuación
   (E) Ninguna de las anteriores
9. El origen biosintético de los bloques de construcción y las coenzimas proviene de unos cuantos precursores llamados metabolitos focales. ¿Cuáles de los siguientes son metabolitos focales?
   (A) cetoglutarato α
   (B) Oxaloacetato
   (C) Fosfoenolpiruvato
   (D) Glucosa 6-fosfatasa
   (E) Todas las anteriores
10. ¿Cuál de los siguientes NO es un componente del peptidoglucano?
   (A) Ácido *N*-acetilmurámico
   (B) *N*-acetilglucosamina
   (C) Lípido A
   (D) Pentaglicina
   (E) Ácido diaminopimélico

11. ¿Cuál de estas vías confiere a una célula capacidad de producir la mayor cantidad de ATP?
    (A) Ciclo del TCA
    (B) Vía del fosfato de la pentosa
    (C) Glucólisis
    (D) Fermentación del ácido láctico
    (E) vía de Entner-Doudoroff

12. Durante el proceso de fosforilación oxidativa, la energía de la fuerza motriz protónica se utiliza para generar
    (A) NADH
    (B) ADP
    (C) NADPH
    (D) Acetil CoA
    (E) ATP

Respuestas

1. D	4. B	7. D	10. C
2. D	5. C	8. C	11. A
3. C	6. E	9. E	12. E

BIBLIOGRAFÍA

Atlas RM, Bartha R: *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*, 4a. ed. Benjamin Cummings, 1998.

Downs DM: Understanding microbial metabolism. *Annu Rev Microbiol* 2006;60:533.

Fuchs G: Alternative pathways of carbon dioxide fixation: Insights into the early evolution of life? *Annu Rev Microbiol* 2011;65:631.

Gibson J, Harwood CS: Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:345.

Hillen W, Stülke J: Regulation of carbon catabolism in *Bacillus* species. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:849.

Hurst CJ, *et al.* (editors): *Manual of Environmental Microbiology*, 2a. ed. ASM Press, 2002.

Ishihama A: Functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:499.

Leigh JA, Dodsworth JA: Nitrogen regulation in bacteria and archaea. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:349.

Lovering AL, Safadi SS, Strynadka NCJ: Structural perspectives of peptidoglycan biosynthesis and assembly. *Annu Rev Biochem* 2012;81:451.

Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 4a. ed. Wiley-Liss, 2002.

Neidhardt FC, *et al.* (editors): *Escherichia coli* and *Salmonella. Cellular and Molecular Biology*, vols. 1 y 2, 2a. ed. ASM Press, 1996.

Peters JW, Fisher K, Dean DR: Nitrogenase structure and function. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:335.

Roberts IS: The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:285.

Russell JB, Cook GM: Energetics of bacterial growth: Balance of anabolic and catabolic reactions. *Microbiol Rev* 1995;59:48.

Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. ASM Press, 2006.

CAPÍTULO

7

Genética microbiana

La ciencia de la **genética** define y analiza la **herencia** de una amplia gama de funciones fisiológicas que constituyen las propiedades del organismo. La unidad básica de la herencia es el **gen**, un segmento de ácido desoxirribonucleico (**DNA**, *deoxyribonucleic acid*) que codifica en su secuencia de nucleótidos información para propiedades fisiológicas específicas. El método tradicional de la genética ha sido identificar los genes con base en su contribución al **fenotipo**, o las propiedades estructurales colectivas y fisiológicas de un organismo. Una propiedad fenotípica podría ser el color de los ojos en los seres humanos o la resistencia a los antibióticos en una bacteria, que por lo general se observan al nivel de cada organismo. La base química para la variación del fenotipo es un cambio en el **genotipo** o alteración en la secuencia de DNA, en un gen o en la organización de los genes.

En el decenio de 1930 se sugirió la participación del **DNA** como elemento fundamental de la herencia en un experimento realizado por Frederick Griffith (figura 7-1). En este experimento, destruyó un *Streptococcus pneumoniae* virulento de tipo III-S (que poseía una cápsula) cuando se le inyectó a un ratón junto con neumococo vivo pero no virulento de tipo II-R (que carecía de cápsula), lo que ocasionó una infección letal en la cual se recuperó el neumococo tipo III-S viable. La implicación fue que algunas entidades químicas transformaron la cepa viva, no virulenta a un fenotipo virulento. Un decenio más tarde, Avery, MacLeod y McCarty descubrieron que el DNA era el agente transformador. Este conocimiento constituye el fundamento de la biología molecular, tal como se conoce hoy en día.

La tecnología del DNA recombinante se creó entre 1960 y 1970, cuando las investigaciones con bacterias revelaron la presencia de **enzimas de restricción**, proteínas que fragmentan el DNA en lugares específicos, lo que da lugar a **fragmentos de restricción** de DNA. Los **plásmidos** se identificaron como elementos genéticos pequeños que transportan genes y son capaces de replicación independiente en bacterias y levaduras. La introducción de un fragmento restrictivo de DNA en el interior de un plásmido permite la amplificación de dicho fragmento muchas veces. La amplificación de regiones específicas de DNA también puede lograrse con enzimas bacterianas utilizando **la reacción en cadena de polimerasa** (PCR, *polymerase chain reaction*) u otro método basado en enzimas de amplificación de ácido nucleico. El DNA amplificado por estos medios y digerido con enzimas de restricción apropiadas puede insertarse en plásmidos. Los genes pueden colocarse bajo el control de **promotores** bacterianos de alta expresión, que codifican proteínas que se expresan en concentraciones elevadas. La genética bacteriana ha fomentado el desarrollo de la **ingeniería genética** tanto en células procariotas como eucariotas. Esta tecnología es causante del notable avance en el campo de la medicina que ha ocurrido hoy en día.

ÁCIDOS NUCLEICOS Y SU ORGANIZACIÓN EN GENOMAS EUCARIÓTICO, PROCARIÓTICO Y VIRAL

La información genética en bacterias se almacena como una secuencia de bases de DNA (figura 7-2). La mayor parte de moléculas de DNA son bicatenarias, con **bases complementarias** (A-T; G-C) unidas por puentes de hidrógeno en el centro de la molécula (figura 7-3). La orientación de las dos cadenas de DNA es **antiparalela**: una cadena tiene orientación química de 5′→ 3′ y su cadena complementaria sigue una dirección 3′→ 5′. La complementariedad de las bases permite que una cadena (**cadena de plantilla**) proporcione la información para la copia con la expresión de la información en la otra cadena (**cadena de codificación**). Los pares de bases se apilan en el centro de la doble hélice de DNA y determinan la información genética. Cada giro de la hélice tiene un surco mayor y un surco en espejo. Algunas proteínas son capaces de unirse a DNA y regular la expresión génica al interactuar de manera predominante con el surco principal, sitio en que están más expuestos los átomos que comprenden las bases. Cada una de las cuatro bases se une a una fosfo-2′-desoxirribosa para formar un **nucleótido**. El esqueleto fosfodiéster con carga negativa del DNA se encuentra en contacto con el solvente. La longitud de la molécula de DNA por lo común se expresa en miles de pares de bases o **pares de kilobases** (**kbp**, *kilobase pairs*). En tanto que un virus pequeño puede contener una sola molécula de DNA menor de 0.5 kbp, un solo genoma de DNA que codifica *Escherichia coli* rebasa los 4 000 kbp. En cada caso, cada par de bases está separado de la siguiente por casi 0.34 nm o 3.4×10^{-7} mm, de forma que la longitud total del cromosoma de *E. coli* es de casi 1 mm. Aproximadamente las dimensiones globales de la bacteria son mil veces menores que tal cifra; por ello es evidente que un grado sustancial de plegamiento, o **superenrrollado** contribuye a la estructura física de la molécula *in vivo*.

El **ácido ribonucleico** (**RNA**, *ribonucleic acid*) más a menudo se encuentra en forma de una sola tira (monocatenario). La base uracilo (U) sustituye a la timina (T) en el DNA,

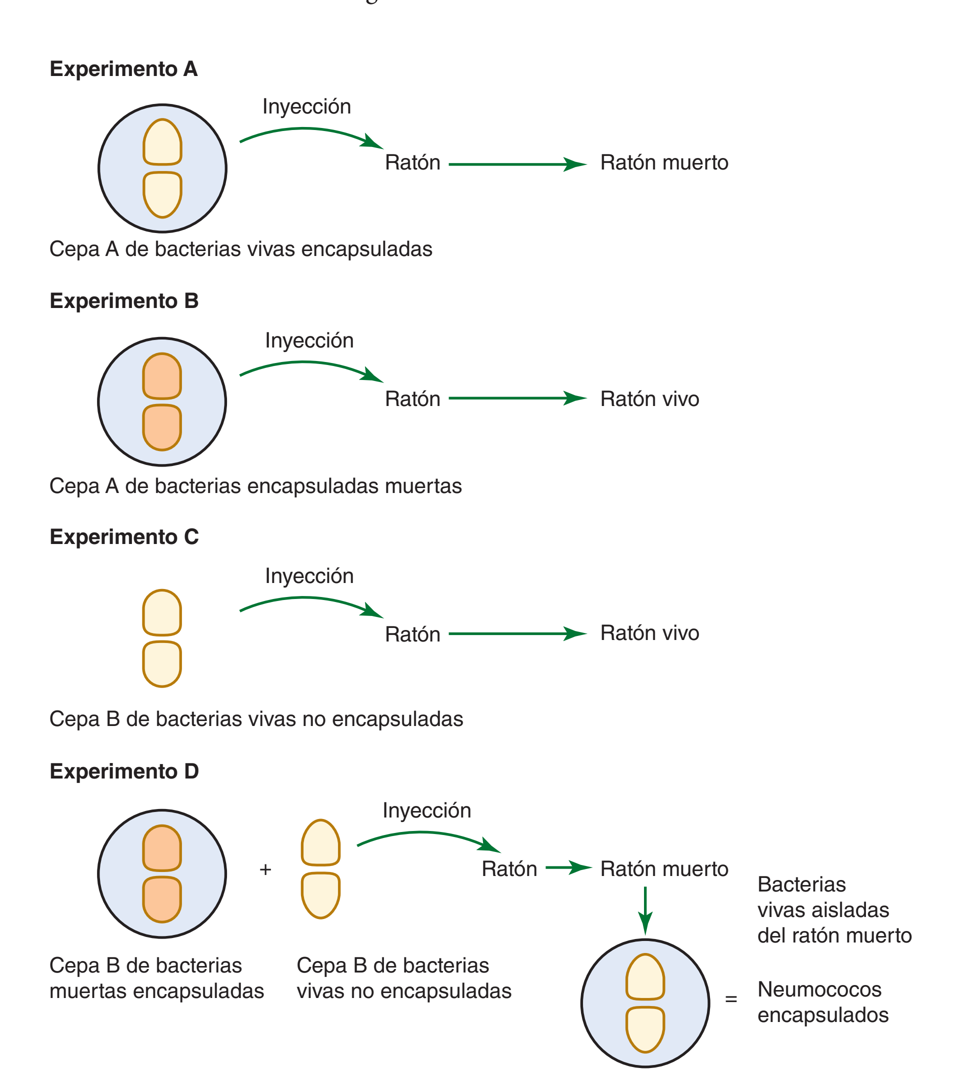


FIGURA 7-1 Experimento de Griffith que muestra la evidencia para un factor transformador, más tarde identificado como DNA. En una serie de experimentos, se inyectó a ratones *Streptococcus pneumoniae* vivos o muertos, encapsulados o no encapsulados, como se indica en los experimentos marcados con las letras A a D. El experimento fundamental está marcado con la letra D, en el que se demuestra que las bacterias encapsuladas muertas proporcionan un factor que permite que las bacterias no encapsuladas maten al ratón. Además de proporcionar un sustento fundamental para la importancia de la cápsula en la virulencia de los neumococos, el experimento D también ilustra el principio de que el DNA es la base fundamental para la transformación genética. (Reproducida con autorización de McClane & Mietzner, *Microbial Pathogenesis: A Principles-Oriented Approach*. Fence Creek Publishing, 1999).

de manera que las bases complementarias que determinan la estructura de RNA son A-U y C-G. La estructura general del RNA de una sola cadena (ssRNA, *single-stranded RNA*) depende del pareamiento entre las bases en las cadenas formadoras de asas, con el resultado de que la molécula de RNA de una sola cadena asume una estructura compacta capaz de expresar información genética contenida en el DNA.

La función más general del RNA es la comunicación de la secuencia génica del DNA en forma de **RNA mensajero** (**mRNA**, *messenger RNA*) **a los ribosomas**. Este proceso se conoce como **transcripción** y **traducción**. mRNA (conocido como +ssRNA) es transcrito en la forma de complemento de RNA en la cadena de codificación de DNA. Este mRNA es traducido por los ribosomas. Los ribosomas contienen **RNA ribosómico** (**rRNA**, *ribosomal RNA*) y proteínas, reduciendo este mensaje en la estructura primaria de proteínas a través de **RNA de transferencia** (**tRNA**, *transfer-RNA*). Las moléculas de RNA varían en tamaño desde RNA pequeñas, que contienen menos de 100 bases hasta mRNA, que pueden transportar mensajes genéticos que se extienden hasta varios miles de bases. Los ribosomas bacterianos contienen tres tipos de rRNA con tamaños respectivos de 120, 1 540 y 2 900 bases y varias proteínas (figura 7-4). Las moléculas correspondientes de rRNA en los ribosomas de células eucariotas son un poco más grandes. La necesidad para la expresión de genes individuales cambia en respuesta a las demandas fisiológicas y las necesidades para la expresión génica flexible y se reflejan en el intercambio metabólico rápido de la mayor parte de los mRNA. Por otra parte, el tRNA y rRNA (que se asocian con la función de síntesis de proteínas, universalmente necesaria) tienden a encontrarse estables y constituyen en conjunto más de 95% del RNA total en la célula bacteriana. Unas cuantas moléculas de RNA parecen funcionar como enzimas (**ribozimas**). Por ejemplo, el RNA 23S en la subunidad ribosómica 50S (figura 7-4) cataliza la formación de un enlace peptídico durante la síntesis de proteínas.

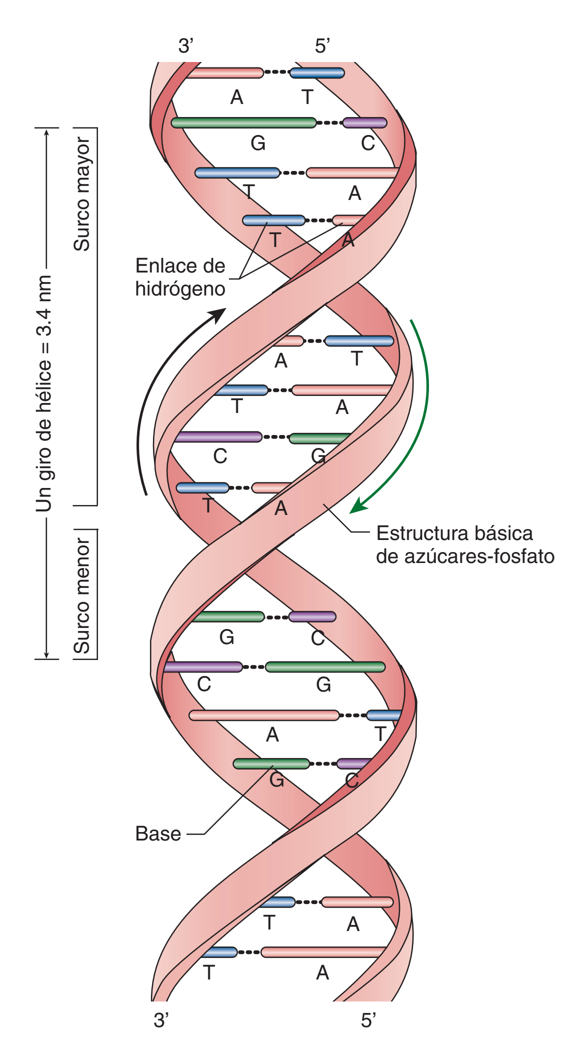


FIGURA 7-2 Esquema de Watson y Crick de la estructura de DNA, que muestra el esqueleto helicoidal formado por azúcares-fosfato, bicatenario, que permanecen unidos por enlaces de hidrógeno entre las bases. (Dibujo reelaborado con autorización de Snyder L. Champness W: *Molecular genetics of bacteria*, 2a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. ©2003 American Society for Microbiology. No se autoriza la reproducción o distribución adicional sin el permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

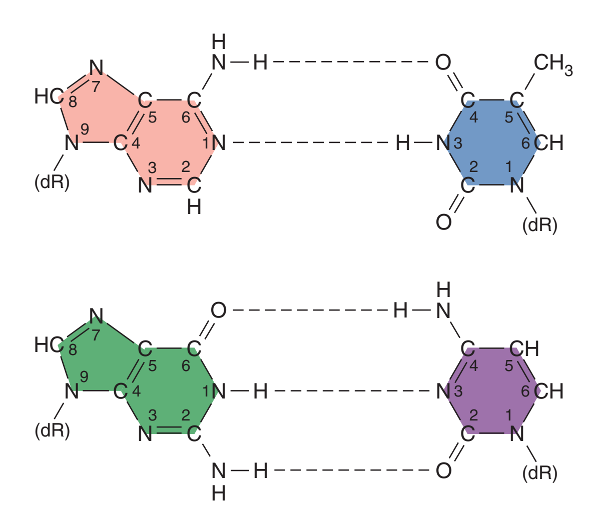


FIGURA 7-3 Pares de bases normales en el DNA. **Arriba:** par de adenina-timina (A-T); **abajo:** par de guanina-citocina (G-C). Los enlaces de hidrógeno se indican por medio de *líneas punteadas*. Nótese que los pares G-C comparten tres grupos de enlaces de hidrógeno, en tanto que el par A-T sólo contiene dos. En consecuencia, las interacciones G-C son más fuertes que las interacciones A-T (dR, desoxirribosa de la estructura básica de azúcar-fosfato del DNA).

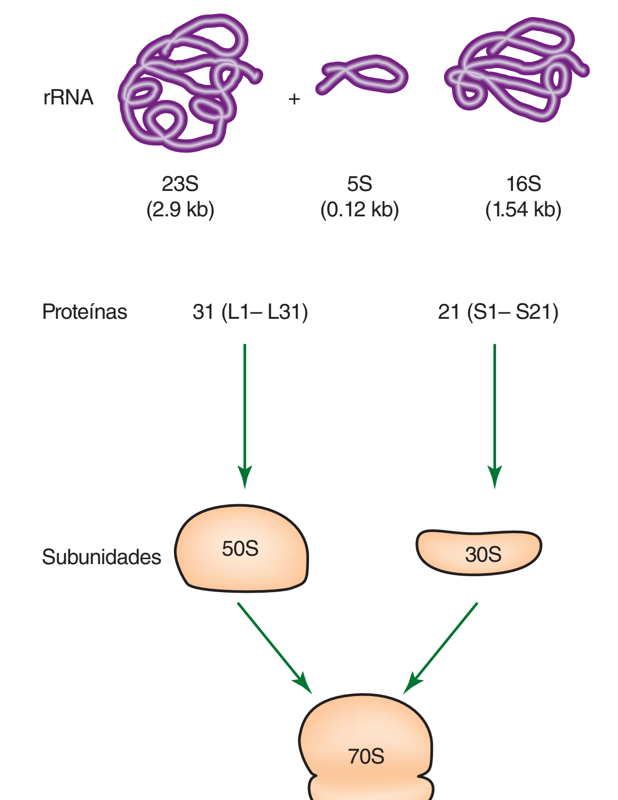


FIGURA 7-4 Composición de un ribosoma que contiene una copia de las fracciones 16S, 23S y 5S de RNA, así como varias proteínas. Las proteínas más grandes de la subunidad 50S se denominan L1 a L31. Las proteínas que son más pequeñas que la subunidad 30S se designan como S1 a S21. (Dibujo reelaborado con autorización de Snyder L. Champness W: *Molecular genetics of bacteria*, 2a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. ©2003 American Society for Microbiology. No se autoriza la reproducción o distribución adicional sin el permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

Genoma de las células eucariotas

El **genoma** es la totalidad de información genética en un organismo. Casi todo el genoma de las células eucariotas se transporta en dos o más cromosomas lineales separados del citoplasma por medio de una membrana que limita el núcleo. Las células eucariotas **diploides** contienen dos **homólogos** (copias divergentes desde el punto de vista evolutivo) de cada cromosoma. Las **mutaciones**, o cambios genéticos, con frecuencia no pueden detectarse en las células diploides porque la contribución de una copia génica compensa los cambios en la función de su homólogo. El gen que no alcanza su expresión fenotípica en presencia de su homólogo es **recesivo**, en tanto que aquel que rebasa el efecto del homólogo es **dominante**. Los efectos de las mutaciones pueden diferenciarse con facilidad en las células **haploides**, que transportan una sola copia de la mayor parte de los genes. Las células de levadura (que son eucariotas) con frecuencia se investigan porque se mantienen

y se analizan en un estado haploide. Sólo 2% de la totalidad del genoma humano se considera **DNA codificador**; el resto es **DNA no codificador**.

La células eucariotas contienen **mitocondrias** y en algunos casos **cloroplastos**. En cada uno de estos organelos existe una molécula circular de DNA que contiene unos cuantos genes cuya función se relaciona con el organelo en particular. Los cromosomas eucariotas transportan la mayor parte de los genes relacionados con la función orgánica. Muchas levaduras contienen elementos genéticos adicionales, un DNA independiente en replicación circular de 2 μm que contiene casi 6.3 kbp. Los pequeños círculos de DNA mencionados, calificados de **plásmidos o episomas**, a menudo están vinculados con las células procariotas. El tamaño pequeño de los plásmidos los hace susceptibles a la manipulación genética y, después de su alteración, puede permitir su introducción a las células. Por lo tanto, los plásmidos se utilizan a menudo en la ingeniería genética.

El **DNA repetitivo** cada vez se identifica con más frecuencia en células procariotas y se encuentra en grandes cantidades en células eucariotas. En los genomas eucariotas, el DNA repetitivo se asocia con poca frecuencia con regiones de codificación y se ubica principalmente en regiones extragénicas. Estas repeticiones de secuencia corta (SSR, *short-sequence repeats*) o secuencias cortas de repetición en grupo (STR, *tandemly repeated sequences*) ocurren en varias o miles copias dispersadas en todo el genoma. La presencia de SSR y STR está bien documentado en células procariotas y muestra amplio polimorfismo en cuanto a longitud. Se cree que esta variabilidad es causada por el deslizamiento con formación inapropiada de pares de bases y es un prerrequisito importante para la variación de fase y adaptación bacterianas. Muchos genes eucariotas son interrumpidos por **intrones**, secuencias interpuestas de DNA que se pierden en el mRNA procesado cuando se traducen. Se han observado intrones en genes de arqueobacterias, pero con pocas excepciones no se encuentran en eubacterias (cuadro 3-3).

CUADRO 7-1 Comparación del tamaño de los genomas en procariotas, bacteriófagos y virus selectos

	Microorganismo	Tamaño (kbp)
Procariotas		
Arqueobacterias	*Methanococcus jannaschii*	1660
	Archaeoglobus fulgidus	2180
Eubacterias	*Mycoplasma genitalium*	580
	Mycoplasma pneumoniae	820
	Borrelia burgdorferi	910
	Chlamydia trachomatis	1040
	Rickettsia prowazekii	1112
	Treponema pallidum	1140
	Chlamydia pneumoniae	1230
	Helicobacter pylori	1670
	Haemophilus influenzae	1830
	Francisella tularensis	1893
	Coxiella burnetii	1995
	Neisseria meningitides del serogrupo A	2180
	Neisseria meningitides del serogrupo B	2270
	Brucella melitensis[a]	2117 + 1178
	Mycobacterium tuberculosis	4410
	Escherichia coli	4640
	Bacillus anthracis	5227
	Burkholderia pseudomallei[a]	4126 + 3182
Bacteriófago	*Lambda*	48
Virus	*Ébola*	19
	Viruela	186
	Viriolovacuna	192
	Citomegalovirus	229

[a]Organismos con dos cromosomas circulares diferentes.

Genoma de células procariotas

La mayor parte de genes procariotas son transportados en los cromosomas bacterianos. Con pocas excepciones, los genes bacterianos son haploides. Los datos de la secuencia del genoma obtenidos de más de 340 genomas microbianos, demostraron que muchos de los genomas procarióticos (> 90%) consisten en una sola molécula de DNA circular que contiene de 580 kbp a más de 5 220 kbp de DNA (cuadro 7-1). Unas cuantas bacterias (p. ej., *Brucella melitensis*, *Burkholderia pseudomallei* y *Vibrio cholerae*) tienen genomas que consisten de dos moléculas de DNA circular. Muchas bacterias contienen genes adicionales en los plásmidos que varían en tamaño desde varios hasta 100 kbp. Al contrario de lo que sucede en genomas eucarióticos, 98% de genomas bacterianos está formado por secuencias codificadoras.

Los círculos de DNA están cerrados por enlaces covalentes (cromosomas y plásmidos bacterianos), que contienen la información genética necesaria para su propia replicación, lo que se denomina **replicones** o **episomas**. Las células procariotas no contienen un núcleo, y por lo tanto no existe una membrana que separa los genes bacterianos del citoplasma, como ocurre en las células eucariotas.

Algunas especies bacterianas son eficientes al causar enfermedades en organismos superiores porque poseen genes específicos que actúan como determinantes patógenos. Estos genes a menudo se agrupan en el DNA lo que se conoce como **isla de patogenicidad**. Estos segmentos de genes pueden ser bastante grandes (hasta 200 kbp) y codifican un grupo de genes de virulencia. Las islas de patogenia: 1) tienen un contenido de G + C diferente del resto del genoma; 2) guardan una relación más cercana en el cromosoma con los genes de tRNA; 3) están flanqueados por repeticiones directas y 4) contienen genes diversos que son importantes para la patogenia, que incluye resistencia a antibióticos, adhesinas, invasinas y exotoxinas, así como genes que pueden participar en la movilización genética.

Los genes esenciales para el desarrollo bacteriano (a menudo conocidos como "genes constitutivos") pueden transportarse en los cromosomas, mientras que los plásmidos transportan genes relacionados con funciones especializadas (cuadro 7-2). Muchos plásmidos también codifican secuencias genéticas que median su transferencia desde un microorganismo a otro (como los que interactúan con la pilosidad sexual) y también otros vinculados con la adquisición o redisposición

CUADRO 7-2 Ejemplos de actividades metabólicas determinadas por plásmidos

Microorganismo	Actividad
Pseudomonas sp.	Degradación de alcanfor, tolueno, octano, ácido salicílico
Bacillus stearothermophilus	Amilasa α
Alcaligenes eutrophus	Utilización de H_2 como fuente de energía oxidable
Escherichia coli	Captación y metabolismo de sacarosa, captación de citrato
Klebsiella sp.	Fijación de nitrógeno
Streptococcus (grupo N)	Utilización de lactosa, sistema de galactosa fosfotransferasa, metabolismo de citrato
Rhodospirillum rubrum	Síntesis de pigmento fotosintético
Flavobacterium sp.	Degradación de nailon

genética de DNA (p. ej., la transposasa). Por lo tanto, los genes con orígenes evolutivos independientes pueden asimilarse por los plásmidos y más tarde se diseminan de forma amplia entre la población bacteriana. Una consecuencia de tales eventos genéticos se ha observado en la modificación entre las poblaciones bacterianas de resistencia originada por plásmidos a los antibióticos después de su uso liberal en hospitales.

Los **transposones** son elementos genéticos que contienen varios genes, lo que incluye aquellos necesarios para la migración de un locus genético a otro. Al hacerlo de esta forma, crean **mutaciones de inserción**. La participación de transposones relativamente cortos (longitud de 0.75 a 2 kbp), conocidos como **elementos de inserción**, produce la mayor parte de las mutaciones de inserción. Estos elementos de inserción (también conocidos como elementos de secuencias de inserción [IS, *insertion sequence*]) transportan sólo los genes para las enzimas necesarias a fin de favorecer su propia transposición a otro locus genético, pero no pueden replicarse por sí mismos. Casi todas las bacterias transportan elementos IS y cada especie porta sus propias características. Los elementos IS relacionados pueden encontrarse en ocasiones en diferentes bacterias, lo que implica que en algún punto de la evolución ocurrieron recombinaciones con otras bacterias. Los plásmidos también portan elementos IS, que son importantes para la formación de cepas recombinantes de alta frecuencia (**Hfr**, *high-frequency recombinant*) (véase adelante). Los transposones complejos portan genes para funciones especializadas como resistencia a antibióticos y están rodeadas por secuencias de inserción.

Los transposones no portan información genética necesaria para acoplarse a su propia réplica de la división celular, y por esta razón su propagación depende de su integración física con un replicón bacteriano. Dicha relación se induce por enzimas que confieren a los transposones la capacidad de formar copias de sí mismos; dichas enzimas permiten a los transposones integrarse dentro del mismo replicón o de otro independiente. La especificidad de la secuencia en el punto de inserción suele ser pequeña de tal forma que los transposones a menudo se insertan de manera aleatoria pero tienden a hacerlo en regiones que codifican tRNA. De una a otras bacterias son transferidos muchos plásmidos y la inserción de un transposón en un plásmido de ese tipo constituye un vehículo que permite la diseminación del transposón en toda la población bacteriana.

Genoma viral

Los virus son capaces de sobrevivir, pero no de proliferar en ausencia de una célula hospedadora. La replicación del genoma viral depende de la energía metabólica y maquinaria de síntesis de macromoléculas del hospedador. Con frecuencia, esta forma de parasitismo genético da origen a la debilitación o muerte de la célula hospedadora. Por lo tanto, para la propagación exitosa de los virus se requiere: 1) una forma estable que permita que el virus sobreviva en ausencia de su hospedador; 2) un mecanismo para la invasión de la célula hospedadora; 3) información genética necesaria para la replicación de los componentes virales en el interior de la célula y 4) información adicional que pueda ser necesaria para el empaquetamiento de los componentes virales y la liberación del virus resultante desde la célula hospedadora.

Con frecuencia se hacen distinciones entre los virus relacionados con células eucariotas y aquellos relacionados con las procariotas; a estas últimas se les denomina **bacteriófago** o **fago**. Cuando el DNA viral se incorpora al genoma eucariótico, recibe el nombre de **provirus**; cuando un fago se incorpora a un genoma bacteriano o episoma, se denomina **profago**. Con más de 5 000 aislamientos de morfología conocida, los bacteriófagos constituyen el mayor grupo de todos los virus. Gran parte de la comprensión actual de los virus (y muchos conceptos fundamentales de biología molecular) han surgido de investigaciones de bacteriófagos.

Los bacteriófagos se presentan en más de 140 géneros bacterianos y en diversos hábitat. La molécula de ácido nucleico de los bacteriófagos está rodeada por una cubierta proteínica. Existe una variabilidad notable en el ácido nucleico de los bacteriófagos. Muchos de éstos contienen DNA bicatenario (dsDNA, *double-stranded DNA*); otros contienen RNA bicatenario (dsRNA, *double-stranded RNA*), ssRNA, o DNA monocatenario (ssDNA, *single-stranded DNA*). En ocasiones se encuentran bases poco comunes como hidroximetilcitosina en el ácido nucleico de bacteriófagos. Éstos muestran una amplia gama de morfologías. Muchos contienen estructuras especializadas con forma similar a jeringas (colas) que se unen a receptores sobre la superficie celular e inyectan el ácido nucleico del bacteriófago en la célula hospedadora (figura 7-5).

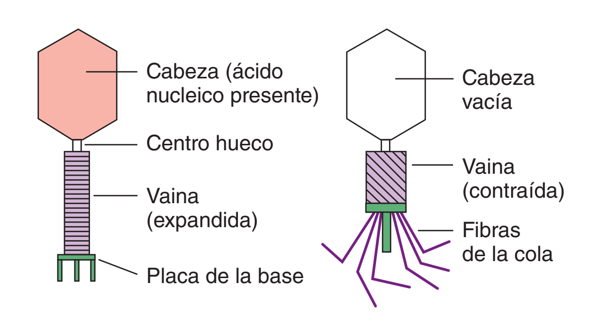


FIGURA 7-5 Ilustraciones del fago T2 con o sin ácido nucleico. Obsérvese que cuando el fago se encuentra cargado con ácido nucleico adquiere una forma diferente que cuando carece del mismo. Este diagrama se dibujó con base en observaciones realizadas en una micrografía electrónica.

Los bacteriófagos pueden diferenciarse con base en su modo de propagación. Los **bacteriófagos líticos** producen muchas copias de sí mismos conforme destruyen la célula hospedadora. Los bacteriófagos líticos estudiados más a fondo, los bacteriófagos T "pares" (p. ej., T2, T4) han demostrado la necesidad de expresión oportuna de los genes virales a fin de coordinar los eventos relacionados con la formación del bacteriófago. Los **bacteriófagos moderados** pueden penetrar en un **probacteriófago** no lítico, lo que indica que se insertaron dentro del cromosoma de la bacteria, estado en el cual la réplica de su ácido nucleico queda unida a la réplica del DNA de la bacteria hospedadora. Las bacterias que portan probacteriófagos se denominan **lisógenas** porque una señal fisiológica puede desencadenar un ciclo lítico que da origen a la destrucción de la célula hospedadora y la liberación de muchas copias del bacteriófago. El bacteriófago moderado mejor identificado es el bacteriófago λ (lambda) de *E. coli*. Los **fagos filamentosos**, que se ejemplifican bien con el bacteriófago M13 de *E. Coli*, son excepcionales en varios aspectos. Sus filamentos contienen ssDNA que forma complejos con proteínas y presentan extrusión desde la célula hospedadora, la cual se debilita pero no muere a causa de la infección por fagos. La ingeniería de DNA en el interior del fago M13 ha proporcionado cadenas únicas que son fuentes de gran utilidad para el análisis y manipulación del DNA.

REPLICACIÓN

El dsDNA se sintetiza por **replicación semiconservadora**. Conforme la doble cadena original se desenrolla, cada cadena sirve como plantilla (es decir, como la fuente de información de la secuencia) para la replicación de DNA. Nuevas cadenas se sintetizan con la colocación de bases en orden complementario a las cadenas preexistentes. Cuando se ha completado la síntesis, cada molécula hija contiene una cadena original y una cadena de síntesis reciente.

DNA bacteriano

La replicación de DNA bacteriano inicia en un punto y se desplaza en ambas direcciones (**replicación bidireccional**). En el proceso, las dos cadenas viejas de DNA se separan y se utilizan como plantilla para la síntesis de nuevas cadenas (**replicación semiconservadora**). La estructura donde dos cadenas se separan y ocurre la nueva síntesis se conoce como **horquilla de replicación**. La replicación del cromosoma bacteriano es un proceso estrechamente controlado; el número de cada cromosoma (cuando hay más de uno) por célula en desarrollo disminuye entre uno y cuatro. Algunos plásmidos bacterianos pueden tener incluso 30 copias dentro de una bacteria, y las mutaciones que ocasionan control disminuido de la réplica del plásmido pueden producir un número de copias 10 veces mayor.

La replicación de DNA bacteriano circular bicatenario inicia en el *locus ori* e implica interacciones con varias proteínas. En el caso de *E. coli*, la replicación cromosómica termina en una región denominada *ter*. Los sitios de **origen** (*ori*) y de **terminación** (*ter*) para la replicación se ubican en puntos opuestos en el DNA circular del cromosoma. Los dos cromosomas hijos se separan o se resuelven antes de la división celular, de forma que cada progenie cuenta con un DNA hijo. Esto se logra con la ayuda de la recombinación y con **topoisomerasas**, enzimas que alteran el superenrollado del DNA bicatenario. Las topoisomerasas actúan al cortar en forma transitoria una o ambas cadenas de DNA para interrumpir la espiral y extender la molécula de DNA. Las topoisomerasas bacterianas son esenciales y peculiares, por lo tanto son el sitio de acción de **antibióticos** (como las quinolonas). Un proceso similar conduce a la replicación de DNA de plásmidos, con la excepción de que en algunos casos la replicación es unidireccional.

Bacteriófagos

Los fagos muestran diversidad considerable en cuanto a la naturaleza de su ácido nucleico; dicha diversidad se refleja en los diferentes modos de replicación. Los fagos líticos y moderados muestran estrategias de propagación fundamentalmente diferentes. Los fagos líticos producen muchas copias de sí mismos en un solo brote de crecimiento. Los fagos moderados se establecen en la forma de profagos ya sea al volverse parte de un replicón establecido (cromosoma o plásmidos) o al formar un replicón independiente.

El dsDNA de muchos fagos líticos es lineal y la primera etapa en su replicación es la formación de DNA circular. Este proceso depende de **extremos de cohesión**, complementarios monocatenarios de DNA que se hibridizan. La **ligadura**, que consiste en la formación de un enlace fosfodiéster entre los extremos 5′ y 3′ de DNA, da origen a DNA circular unido por enlaces componentes que puede sufrir replicación de una forma similar a la utilizada por otros replicones. El desdoblamiento de esta estructura circular produce DNA lineal que se empaca en cubiertas proteínicas para formar la progenie de los fagos.

El ssDNA de los fagos filamentosos cambia a una forma de replicación circular bicatenario. Una cadena de las formas de replicación se utiliza como plantilla en un proceso continuo que produce ssDNA. La plantilla es un círculo cerrado y el ssDNA que se produce sufre desdoblamiento y empaquetamiento con proteínas para su extrusión de la célula.

Los fagos ssRNA se encuentran entre las partículas extracelulares más pequeñas que contienen información que permite su propia replicación. Por ejemplo, el fago MS2 de RNA contiene (en menos de 4 000 nucleótidos) los tres genes que pueden actuar como mRNA después de una infección. Un gen codifica la cubierta de proteínas en tanto que otro codifica la polimerasa de RNA que forma un dsRNA para la replicación. El ssRNA producido por la forma replicativa es la parte principal de esta nueva partícula infecciosa.

Cuando el genoma P1 del bacteriófago moderado de *E. coli* sufre un ciclo de lisogénesis, existe como un plásmido autónomo en la bacteria. El dsDNA de otro bacteriófago moderado se establece como probacteriófago mediante la inserción en el cromosoma del hospedador. El sitio de inserción puede ser bastante específico, como se ejemplifica por la integración del bacteriófago λ de *E. coli* en el locus *int* del cromosoma bacteriano. La especificidad de la integración depende de la identidad de la secuencia de DNA compartido por el locus cromosómico *int* y una región correspondiente del genoma del fago. Otro bacteriófago moderado, como el Mu de *E. coli*, se integra en cualquier sitio de una amplia gama de sitios cromosómicos y en este aspecto se comporta de manera similar a los transposones.

Los profagos contienen genes necesarios para la replicación lítica (también conocida como replicación vegetativa); la expresión de estos genes se conserva reprimida durante el mantenimiento del estado de profago. Una manifestación de represión es que un profago establecido con frecuencia confiere inmunidad celular contra infecciones líticas por medio de un fago similar. Una cascada de interacciones moleculares desencadena la **desrepresión** (liberación de la represión), de forma que los profagos sufren replicación vegetativa, lo que conduce a la formación de un brote de partículas infecciosas. Los estímulos como la luz ultravioleta (UV, *ultraviolet*) pueden eliminar la desrepresión del profago. El cambio entre la lisogenia (propagación del genoma del fago en el hospedador) y el crecimiento de un fago vegetativo ocurre a expensas de la célula y puede depender en parte del estado fisiológico de la misma. Una bacteria que no presenta replicación no dará soporte vegetativo al crecimiento del fago, en tanto que una célula en crecimiento intensivo contiene energía y cantidades suficientes de bloques de construcción para soportar la replicación rápida del bacteriófago.

TRANSFERENCIA DE DNA

Puede suponerse que la naturaleza haploide del genoma bacteriano limita la plasticidad genómica de una bacteria. Sin embargo, la distribución ubicua de diversas bacterias en el medio ambiente proporciona un amplio acervo genético que contribuye a su notable diversidad genética a través de mecanismos de intercambio genético. El intercambio genético bacteriano está tipificado por la transferencia de fragmentos relativamente pequeños de genoma donador a una célula receptora, seguida de su recombinación genética. La recombinación genética bacteriana es muy diferente a la fusión de los gametos observada en las células eucariotas; este proceso demanda que el DNA donador se replique en el organismo recombinante. La replicación puede lograrse a través de la integración del DNA donador en un cromosoma del receptor o mediante el establecimiento de DNA donador como un episoma independiente.

Restricción y otras limitantes de la transferencia génica

Las **enzimas de restricción** (endonucleasas de restricción) proporcionan a las bacterias mecanismos para diferenciar entre su propio DNA y el DNA de otros orígenes biológicos. Estas enzimas hidrolizan (desdoblan) el DNA en sitios de restricción que dependen de secuencias específicas de DNA que van desde cuatro a 13 bases. Cada cepa bacteriana posee un sistema de restricción que es capaz de ocultar estos sitios de reconocimiento en su propio DNA al modificarlos mediante metilación o la adición de residuos de citocina en el sitio. Dichos sistemas de modificación de la restricción caen en dos grupos amplios: sistemas tipo I, en el cual las actividades de restricción y modificación se combinan en una proteína con varias subunidades, y el sistema tipo II, que consiste de endonucleasas y metilasas separadas. Una consecuencia biológica directa de la restricción pudiera ser la separación del DNA donante antes de que haya tenido la oportunidad de establecerse como parte de un replicón recombinante y hacer a la bacteria "inmune" al DNA de entrada.

Algunos plásmidos muestran un número limitado de hospedadores y son capaces de replicarse sólo en un grupo de bacterias con relación estrecha. Otros plásmidos, ejemplificados por algunos plásmidos de resistencia a fármacos, muestran replicación en géneros muy diversos de bacterias. En algunos casos, coexisten de manera estable dentro de la bacteria dos o más plásmidos, pero otros pares interferirán con la réplica o la partición. Si se introducen en la misma bacteria dos de los plásmidos con tales características, terminará por perderse uno u otro con mayor rapidez de lo normal cuando se divida la bacteria. El fenómeno se denomina **incompatibilidad de plásmidos**; dos plásmidos que no pueden coexistir de manera estable pertenecen al mismo **grupo de incompatibilidad (Inc)**; dos plásmidos que pueden coexistir en forma estable pertenecen a diferentes grupos Inc.

Mecanismos de recombinación

El DNA donador que no porta información necesaria para su propia replicación debe combinarse con el DNA del receptor a fin de establecerse en la cepa receptora. La recombinación puede ser **homóloga**, una consecuencia de la enorme semejanza de las secuencias del DNA del donante y el receptor, o **no homóloga**, como resultado de la recombinación catalizada por enzimas entre dos secuencias de DNA diferentes. La recombinación homóloga casi siempre implica el intercambio entre genes que comparten ancestros comunes. El proceso requiere un grupo de genes designados como *rec*. La recombinación no homóloga depende de enzimas codificadas por el DNA integrado y se ejemplifica con mayor claridad por la inserción de DNA en un receptor para formar una copia de un transposón donador.

El mecanismo de recombinación mediada por los productos génicos del gen *rec* es recíproco: la introducción de una secuencia donadora en un receptor corresponde con la transferencia de una secuencia receptora homóloga en el DNA donador. La comunidad científica pone cada vez más atención a la participación de la **conversión génica** (transferencia no recíproca de secuencias de DNA del donador al receptor) en la adquisición de diversidad genética.

Mecanismos de transferencia génica

La composición de DNA de los microorganismos es notablemente fluida. El DNA puede transferirse de un organismo a otro; dicho DNA puede incorporarse de manera estable en el receptor, modificando de manera permanente su composición genética. Este proceso se denomina **transferencia génica horizontal** para diferenciarla de la herencia proveniente de genes paternos, un proceso conocido como herencia **vertical**. Los tres mecanismos amplios que median el desplazamiento eficiente del DNA entre las células son: **conjugación**, **transducción** y **transformación**.

La **conjugación** requiere que la célula donadora y receptora se encuentre en contacto para la transferencia de una sola cadena de DNA (figura 7-6). El receptor completa la estructura del DNA bicatenario mediante la síntesis de la cadena que complementa a la cadena adquirida del donador. En la **transducción**, el DNA del donador se transporta en un fago cubierto y se transfiere al receptor por un mecanismo utilizado para la

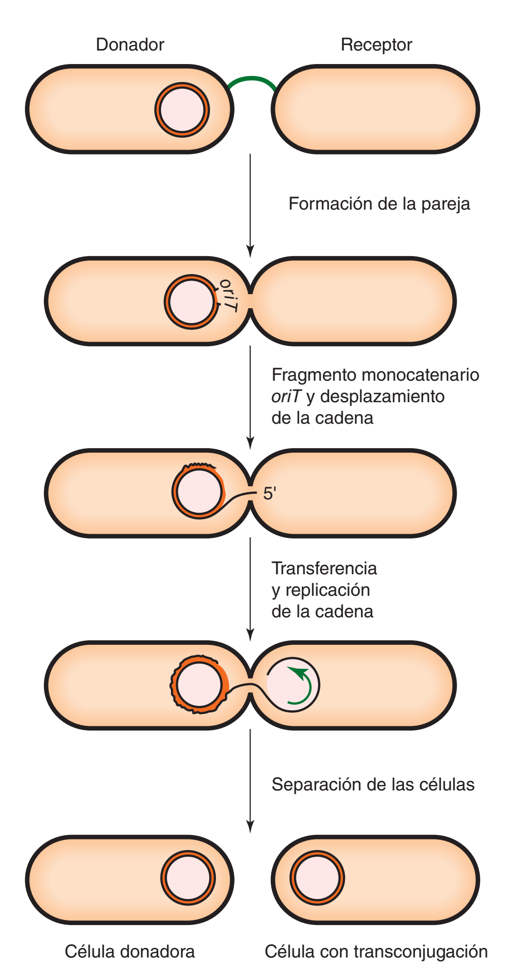


FIGURA 7-6 Mecanismos de transferencia de DNA durante la conjugación. La célula donadora produce una pilosidad, que es codificado por plásmidos y se pone en contacto con una célula receptora potencial que no contiene el plásmido. La retracción de la pilosidad acerca a las células y se forma un poro en las membranas celulares adyacentes. Formación de señales de apareamiento que indican que el plásmido inicia la transferencia de un fragmento monocatenario en *oriT*. El fragmento está constituido por un plásmido codificado con funciones *tra*. El extremo 5′ de una cadena del plásmido se transfiere al receptor a través del poro. Durante la transferencia, el plásmido se replica del donador e inicia la síntesis de DNA a partir del extremo 3′ del fragmento *oriT*. La replicación de una cadena en el receptor continúa por diferentes mecanismos con cebadores de RNA. Ambas células contienen ahora plásmidos bicatenarios y las células se separan. (Dibujo reelaborado con autorización de Snyder L. Champness W: *Molecular genetics of bacteria*, 2a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. ©2003 American Society for Microbiology. No se autoriza la reproducción o distribución adicional sin el permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

infección por bacteriófagos. La **transformación** consiste en la captación directa de DNA "desnudo" del donador por la célula receptora, lo cual puede ser natural o forzado. La transformación forzada es inducida en el laboratorio, donde después del tratamiento con altas concentraciones de sales y un golpe térmico, muchas bacterias se tornan competentes para la captación de plásmidos extracelulares. La capacidad para forzar a las bacterias para incorporar plásmidos extracelulares mediante transformación es un proceso fundamental para la ingeniería genética.

A. Conjugación

Los plásmidos se transfieren con frecuencia por conjugación. Las funciones genéticas necesarias para la transferencia están codificadas por los genes *tra*, que son transportados por **plásmidos** autotransmisibles. Estos últimos pueden movilizar otros plásmidos o porciones del cromosoma para su transferencia. En algunos casos se logra la movilización porque los genes *tra* proporcionan las funciones necesarias para la transferencia de un plásmido por lo demás no susceptible de transmisión (figuras 7-7 y 7-8). En otros casos, los plásmidos autotransmisibles se integran con el DNA de otro replicón y, como una extensión de sí mismo, portan cadenas de DNA a la célula receptora.

El análisis genético de *E. coli* avanzó en gran medida al dilucidar los factores de **fertilidad** que portaban los plásmidos designados como F^+. Este plásmido confiere ciertas características del donador a las células; tales características incluyen una pilosidad sexual, extrusión de proteínas multiméricas extracelulares

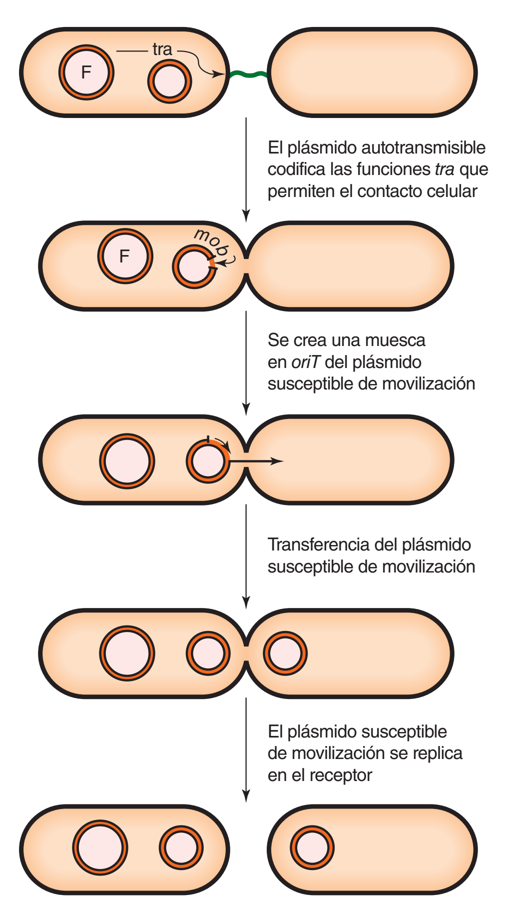
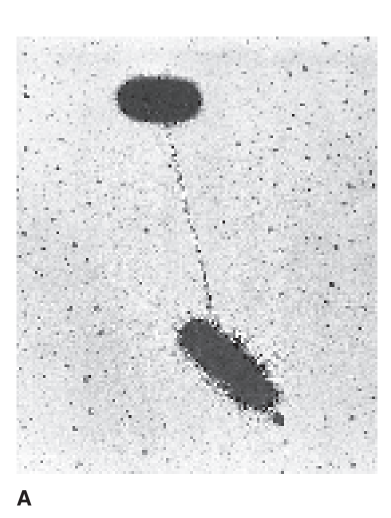
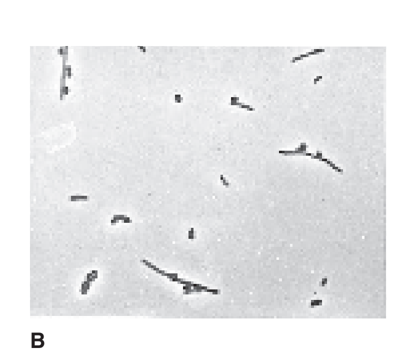


FIGURA 7-7 Mecanismos de movilización de plásmidos. La célula donadora porta dos plásmidos, un plásmido autotransmisible F que codifica las funciones *tra* que promueven el contacto celular y la transferencia de plásmidos y un plásmido susceptible de movilización. Las funciones *mob* codificadas por un plásmido susceptible de movilización crean una muesca monocatenaria en *oriT* en la región *mob*. Entonces ocurre la transferencia y replicación del plásmido susceptible de movilización. También puede transferirse el plásmido autotransmisible. (Dibujo reelaborado con autorización de Snyder L. Champness W: *Molecular genetics of bacteria*, 2a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. ©2003 American Society for Microbiology. No se autoriza la reproducción o distribución adicional sin el permiso escrito de la American Society for Microbiology.)


A


B

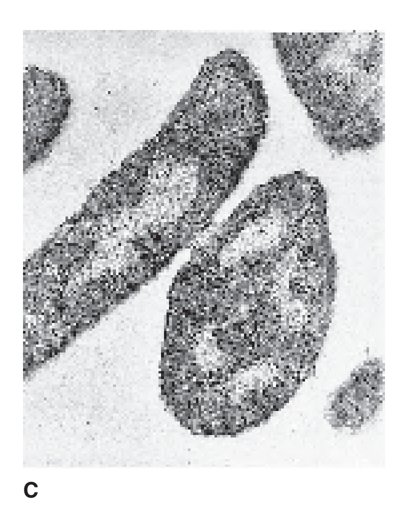

C

FIGURA 7-8 **A:** Las células macho y hembra se unen por medio de una pilosidad F (pilosidad sexual). **B:** Parejas las células de *E. coli*. Hay elongación de las células Hfr. **C:** Micrografía electrónica de un corte delgado de una pareja de células. Las paredes celulares se encuentran en contacto íntimo con un área en la que se ha formado un "puente" (Fotografía [A]: por cortesía de Carnahan J y Brinton C. Fotografías B y C reproducidas con autorización de Gross JD and Caro LG: DNA transfer in bacterial conjugation. *J Mol Biol* 1966;16:269).

que se unen a las células del donador al organismo receptor que carece de factor de fertilidad. Un puente entre las células permite que una cadena de plásmido F^+, sintetizada por el donador, pase hacia el receptor, donde se forma una cadena de DNA complementario. El factor de fertilidad F^+ puede integrarse en numerosos locus en los cromosomas de las células donadores. El factor de fertilidad integrado crea donadores con recombinaciones de alta frecuencia (Hfr) en la cual se transfiere DNA cromosómico (del sitio de inserción) en una dirección determinada por la orientación de la inserción (figura 7-9).

La tasa de transferencia cromosómica de las células Hfr es constante y la compilación de resultados de muchos experimentos de conjugación ha permitido la preparación de un **mapa genético** de *E. coli*, en el cual se mide la distancia entre los locus en el número de minutos necesarios para la transferencia en la conjugación. Se ha construido un mapa similar para coliformes relacionadas como *Salmonella typhimurium* y de la comparación de los dos mapas se han mostrado tipos de organización genómica relacionados. En la actualidad esta clase de mapeo ha sido reemplazado por secuenciación genómica de alto rendimiento.

La integración del DNA cromosómico en un plásmido de conjugación puede producir un replicón recombinante (un cebador **F** [de fertilidad] o **R** [de resistencia], lo que depende del plásmido) en el cual el DNA cromosómico integrado puede replicarse en el plásmido de manera independiente del cromosoma. Esto ocurre cuando el plásmido integrado (p. ej., F) es rodeado por dos copias de un elemento IS. Las bacterias que portan copias de genes, un grupo completo de cromosomas y un grupo parcial de cebadores, son **parcialmente diploides** o **merodiploides** y son útiles para estudios de complementación. Un gen natural con frecuencia se complementa con un homólogo mutante y la selección de un fenotipo natural puede permitir el mantenimiento de merodiploides en el laboratorio. Es posible que tales cepas permitan el análisis de interacciones entre los diferentes **alelos**, variantes genéticas del mismo gen. Los merodiploides con frecuencia son inestables desde el punto de vista genético porque las recombinaciones entre los plásmidos y el cromosoma homólogo pueden ocasionar pérdida o cambio del mutante o alelos de tipo natural. Este problema a menudo se supera al conservar los merodiploides en un entorno genético en el cual se haya inactivado el gen *recA*, que es necesario para la recombinación entre segmentos homólogos de DNA.

Los genes homólogos de diferentes organismos pueden ser divergentes en un área tal que evite la recombinación homóloga entre ellos, pero que no se altere la capacidad de un gen para complementar la actividad perdida de otro. Por ejemplo, el origen genético de una enzima necesaria para la biosíntesis de un aminoácido probablemente no influya la actividad catalítica en el citoplasma de un hospedador distante desde el punto de vista biológico. Un merodiploide que porta un gen para tal enzima podría estar rodeado por genes derivados del organismo donador. Por lo tanto, la genética microbiana convencional, con base en la selección de plásmidos cebadores, puede utilizarse para aislar genes de un organismo de crecimiento lento para utilizarse en *E. coli* o *P. aeruginosa*.

B. Transducción

La transducción es una recombinación genética en las bacterias mediada por bacteriófagos. En términos simples, una partícula de transducción puede considerarse como el ácido nucleico bacteriano en un fago cubierto. Incluso una población de fagos líticos puede contener algunas partículas en las cuales la cubierta del fago está rodeada por DNA derivado de la bacteria más que del propio fago. Tal población se ha utilizado para transferir genes de una bacteria a otra. Los fagos moderados son los vehículos preferidos para la transferencia génica porque la infección de las bacterias receptoras bajo condiciones que favorecen la lisogenia reduce la lisis celular y por lo tanto favorece la supervivencia de las cepas recombinantes. Además, la bacteria receptora porta un profago apropiado que puede formar un represor que a su vez da origen a inmunidad celular

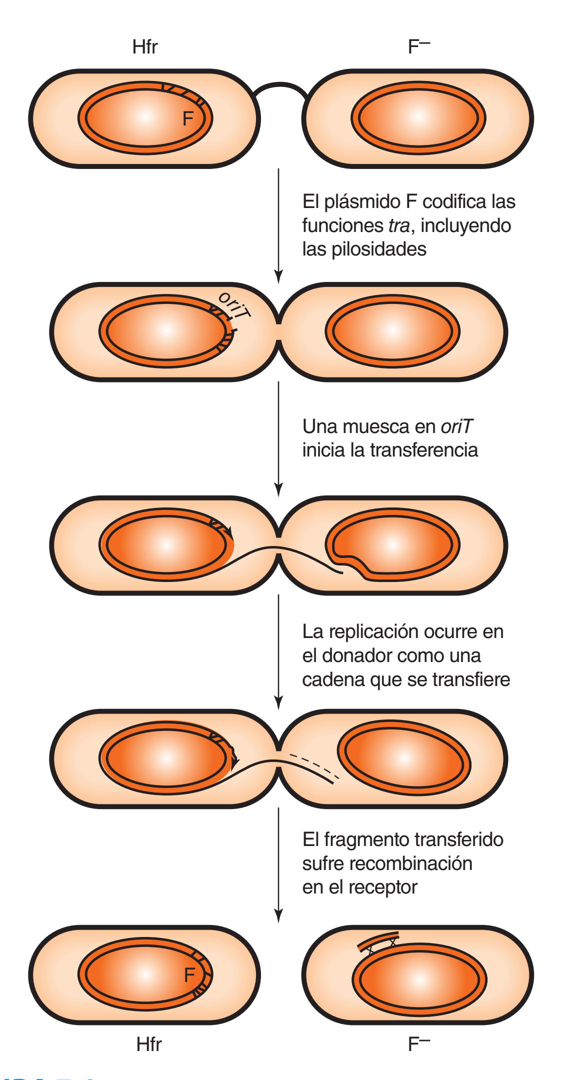


FIGURA 7-9 Transferencia de DNA cromosómico por un plásmido integrado. Formación de parejas de células, formación de una muesca en la secuencia F de *oriT* y transferencia del extremo 5′ de DNA monocatenario F que continúa como una transferencia de plásmido F. La transferencia de DNA cromosómico tendrá lugar con un enlace covalente en tanto permanezca estable la pareja de células. Rara vez ocurre la transferencia de cromosomas completos de forma que la célula receptora permanece como F^-, incluso después de la recombinación. La replicación en el donador por lo común acompaña la transferencia de DNA. También puede ocurrir cierta replicación de la cadena transferida. Una vez en la célula receptora, el DNA transferido puede sufrir la combinación con secuencias homólogas en el cromosoma receptor. (Dibujo reelaborado con autorización de Snyder L. Champness W: *Molecular genetics of bacteria*, 2a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. ©2003 American Society for Microbiology. No se autoriza la reproducción o distribución adicional sin el permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

contra la infección lítica; tales células pueden aún captar DNA bacteriano a partir de partículas de transducción. Las mezclas de transducción portan DNA donador que puede prepararse bajo condiciones que favorecen el ciclo del fago lítico.

El tamaño del DNA en las partículas de transducción por lo común constituye un pequeño porcentaje del cromosoma bacteriano y por lo tanto la **cotransducción** (transferencia de más de un gen a la vez) se limita a los genes bacterianos vinculados. La velocidad y capacidad por las cuales los fagos se recombinan y replican los han convertido en objetos centrales de estudio de genética bacteriana e ingeniería genética.

En la naturaleza, los fagos a menudo transportan a las **islas de patogenicidad**. Por ejemplo, dos fagos transportan islas de patogenicidad de los que depende por conversión una forma benigna de *V. cholerae* en la variante patógena causativa del cólera epidémico (capítulo 17). Estos fagos codifican genes de la toxina del cólera (que causa los síntomas) y las fimbrias formadoras de haces (de las que depende la fijación), las cuales combinadas aumentan sustancialmente la virulencia de *V. cholerae*.

C. Transformación

Según se describió, la transformación forzada se concibe de forma típica como un procedimiento de laboratorio. Sin embargo, ahora es claro que a la **HGT** de baja frecuencia se debe a los mecanismos comunes de antibioticorresistencia en diversas especies de bacterias. Esto no debe sorprender, dado lo complejo de la diversidad y densidad de la flora intestinal de las biopelículas que se forman en la dentadura durante la noche. Lo anterior, junto con la administración terapéutica de antibióticos que seleccionan microorganismos resistentes y una "tormenta perfecta", existe para la diseminación de material genético que cruza límites de especies.

En contraste con la transformación forzada (descrita antes), la competencia natural es inusual entre bacterias. La captación directa del DNA del donador por bacterias receptoras depende de su **competencia** para la transformación. Las bacterias transformables naturalmente competentes, de importancia médica, se encuentran en varios géneros que incluyen *Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis* y *S. pneumoniae*. La transformación natural es un proceso activo que demanda proteínas específicas producidas por la célula receptora. Además, secuencias de DNA específicas (**secuencias captadoras**) se requieren para captar el DNA. Tales secuencias captadoras son específicas de especie, de manera que restringen el intercambio genético a una especie única. El DNA que no se incorpora puede degradarse y usarse como una fuente de nutrientes que favorece el crecimiento microbiano. Es claro que la transformación genética es una fuerza principal en la evolución microbiana.

MUTACIÓN Y REORDENACIÓN GENÉTICA

Mutaciones espontáneas

Las mutaciones espontáneas para un gen dado en un entorno natural por lo general ocurren con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-8} en una población derivada de una sola bacteria (dependiendo de las condiciones utilizadas para identificar la mutación). Las mutaciones incluyen **sustituciones de bases**, **deleciones**, **inserciones** y **reordenamientos**. Las sustituciones de bases pueden surgir como consecuencia de la colocación inapropiada de pares de bases entre bases complementarias durante la replicación. En el caso de *E. coli*, esto ocurre una vez cada 10^{10} veces que se incorpora un nucleótido, un proceso notablemente preciso. La aparición de colocación inapropiada de bases se reduce por la presencia de enzimas asociadas con **la reparación de errores**, un mecanismo que en esencia asegura que una cadena es perfectamente complementaria con su plantilla. Las enzimas de

reparación de errores diferencian la cadena de síntesis reciente de la cadena preexistente con base en la metilación de adenina en las secuencias GATC de la cadena preexistente. Cuando el daño del DNA es demasiado extenso, un sistema de reparación especial de DNA, la **respuesta SOS**, rescata la célula en la cual se ha dañado el DNA. La respuesta SOS es un sistema de reparación de DNA después de la replicación, que permite que la replicación de DNA ocurra sin errores en él.

Muchas sustituciones de base escapan a la detección al nivel fenotípico porque no alteran de manera significativa la función de los productos génicos. Por ejemplo, las **mutaciones de aminoácido**, que resultan de la sustitución de un aminoácido por otro, pueden presentarse sin efecto fenotípico discernible. Por otra parte, las **mutaciones interruptoras** o finalizadoras terminan la síntesis de proteínas y por lo tanto dan origen a proteínas truncadas en el sitio de mutación. Los productos génicos de las mutaciones interruptoras suelen ser inactivos.

Los **reordenamientos** son consecuencia de deleciones que eliminan grandes zonas de genes o incluso conjuntos de los mismos. Tales deleciones grandes implican recombinación entre secuencias repetidas directamente (p. ej., elementos IS) y casi nunca se revierten. Otras mutaciones espontáneas causan duplicación, con frecuencia en grupo o longitudes comparables de DNA. Dichas mutaciones por lo común son inestables y se revierten con facilidad. Otras mutaciones pueden invertir longitudes aún más largas de DNA o causar la transposición de tales secuencias a nuevos locus. Los mapas génicos comparativos de cepas bacterianas relacionadas han mostrado que tales reordenamientos pueden fijarse en poblaciones naturales. Estas observaciones señalan el hecho de que la separación lineal de lugares de DNA en un cromosoma bacteriano no altera del todo las posibilidades de interacción física y química entre ellos.

Mutágenos

La frecuencia de mutaciones se incrementa en gran medida por la exposición de las células a los mutágenos. La luz ultravioleta (UV) es un **mutágeno físico** que daña el DNA al unir bases cercanas de timina para formar dímeros. Pueden introducirse errores de secuencia durante la reparación enzimática de este daño genético. Los **mutágenos químicos** pueden actuar al alterar la estructura física o química del DNA. Los compuestos químicos reactivos alteran la estructura de las bases en el DNA. Por ejemplo, el ácido nitroso (HNO_2) sustituye grupos hidroxilo por aminoácidos en bases del DNA. El DNA resultante tiene actividad de plantilla alterada durante las rondas subsiguientes de replicación. Un **desplazamiento del marco de lectura** es una mutación genética causada por **inserciones** o **deleciones** de un número de **nucleótidos** en una secuencia de DNA que no es divisible entre tres. Dicho deslizamiento es facilitado por la exposición a colorantes acridínicos (como el naranja de acridina) que se intercalan entre una y otra bases.

En términos generales, el efecto directo de los mutágenos químicos o físicos es el daño al DNA. La mutación resultante se introduce por un proceso de replicación y escape de la reparación por las enzimas antes descritas. Las mutaciones que modifican la actividad de replicación o las enzimas de reparación pueden hacer más susceptibles a las bacterias a los mutágenos biológicos y se conocen como *cepas mutantes*.

Reversión y supresión

La recuperación de la actividad perdida como consecuencia de una mutación, conocida como **reversión fenotípica**, puede o no ocasionar el restablecimiento de la secuencia original de DNA, como sería obligado para la **reversión genotípica**. Con frecuencia una mutación en un segundo locus (**mutación de supresión**) restablece la actividad perdida. En la **supresión intragénica**, después de que una mutación primaria ha cambiado la estructura enzimática de forma tal que se ha perdido su actividad, una segunda mutación en un sitio diferente en los genes de la enzima restablece la estructura necesaria para la actividad. La **supresión extragénica** es causada por una segunda mutación que se encuentra fuera del gen originalmente afectado.

EXPRESIÓN GÉNICA

La notable separación evolutiva de los genomas de las células eucariota y procariota se ilustra al comparar sus mecanismos de expresión génica, los cuales comparten sólo un pequeño grupo de propiedades. En ambos grupos, la información genética se codifica en el DNA, se transcribe en el mRNA y se traduce en los ribosomas por medio de tRNA para dar origen a la formación de proteínas. Los codones del triplete de nucleótidos se utilizan en la traducción y por lo general se comparten; muchas enzimas relacionadas con síntesis macromolecular en los dos grupos biológicos tienen propiedades similares. El mecanismo por el cual la secuencia de nucleótidos en un gen determina la secuencia de los aminoácidos en una proteína es muy similar en las células procariotas y eucariotas y consiste en lo siguiente:

1. La polimerasa de RNA forma una cadena de polirribonucleótidos, conocida como *RNA mensajero* (mRNA, *messenger ribonucleic acid*), utilizando DNA como plantilla; este proceso se denomina **transcripción**. El mRNA tiene una secuencia complementaria de nucleótidos para la plantilla en el DNA de doble hélice si se lee en la dirección 3′ a 5′. Así, una cadena de mRNA se orienta en dirección 5′ a 3′.
2. Ocurre activación enzimática de los aminoácidos con transferencia a moléculas adaptadoras específicas de RNA, conocidas como *RNA de transferencia* (tRNA, *transfer ribonucleic acid*). Cada molécula adaptadora tiene un triplete de bases (**anticodón**) complementaria al triplete de bases en el mRNA y en un extremo su aminoácido específico. El triplete de bases en el mRNA se denomina **codón** para dicho aminoácido.
3. El mRNA y tRNA se encuentran juntos en la superficie del ribosoma. Conforme cada tRNA encuentra su triplete de nucleótidos complementarios en el mRNA, el aminoácido que transporta se coloca en la cadena peptídica con el aminoácido de la molécula de tRNA precedente. La enzima **peptidiltransferasa** (que es en realidad 23S rRNA, es decir, una **ribozima**) cataliza la formación del enlace peptídico. El ribosoma se desplaza a lo largo del mRNA, y el péptido crece en forma secuencial hasta que la totalidad del mRNA con el polipéptido naciente se traduce en una secuencia correspondiente de aminoácidos. Este proceso se denomina **traducción** y se ilustra en la figura 7-10.

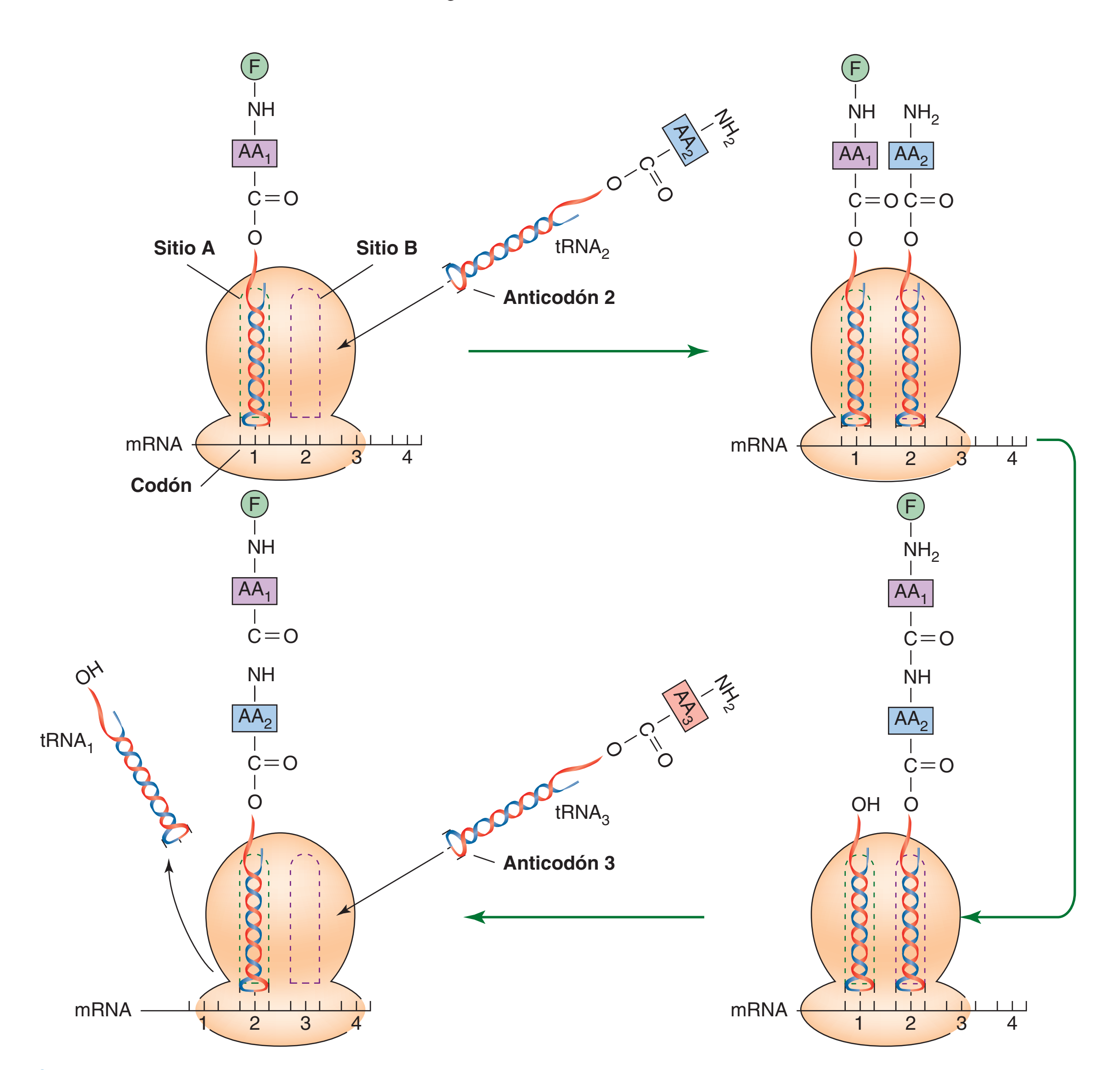


FIGURA 7-10 Cuatro etapas para la elongación de una cadena polipeptídica en la superficie de un ribosoma 70S. **Arriba a la izquierda:** una molécula de tRNA que porta el anticodón complementario para el codón 1 en un extremo y AA_1 en el otro extremo se une al sitio A. AA_1 se une a tRNA a través de su grupo carboxilo; su hidrógeno del grupo amino porta un grupo formilo (F). **Arriba a la derecha:** una molécula de tRNA porta AA_2 que se une al sitio B; su anticodón es complementario con el codón 2. **Abajo a la derecha:** un complejo enzimático cataliza la transferencia de AA_1 al grupo amino de AA_2, al formar un enlace peptídico (obsérvese que la transferencia en dirección opuesta está bloqueada por la formilación previa del grupo amino de AA_1). **Arriba a la izquierda:** los ribosomas se desplazan a la derecha de forma tal que los sitios A y B se encuentran en codones opuestos 2 y 3; en el proceso, el $tRNA_1$ se desplaza y $tRNA_2$ se mueve al sitio A. El sitio B se encuentra nuevamente vacante y está listo para aceptar $tRNA_3$, portando AA_3 (cuando el polipéptido se completa y se libera, el grupo formilo se elimina por medios enzimáticos.) (Dibujo reelaborado y reproducido con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The microbial world*, 3a. ed. Copyright © 1970. Prentice-Hall, Inc. Impresa y reproducida electrónicamente con autorización de Pearson Education, Inc., Nueva York, Nueva York.)

En las células procariotas, los genes asociados con funciones relacionadas por lo común están agrupados en forma de **operones**. Como no existe núcleo, hay acoplamiento de la transcripción y la traducción, lo cual denota que el mRNA naciente se une a un ribosoma y es traducido de forma simultánea con su transcripción. Este acoplamiento de transcripción y traducción permite la respuesta rápida a cambios en el entorno. De la misma forma, el mRNA tiene un recambio rápido del mRNA, con una semivida en el orden de segundos o minutos.

En células eucariotas, el agrupamiento de genes relacionados es poco común. Las **secuencias de incremento** son regiones del DNA eucariota que incrementa la transcripción y que pueden encontrarse distantes del gen transcrito. Los genes eucariotas portan **intrones**, inserciones de DNA que no se encuentran en genes procariotas. Los intrones separan a los **exones**, las regiones de codificación de los genes eucariotas. Los intrones transcritos son eliminados de la transcripción eucariota durante el procesamiento de RNA, una serie de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el núcleo. El mRNA de células eucariotas es poliadenilado en el extremo 3′, lo que lo protege de las exonucleasas, de forma tal que pueden atravesar la membrana nuclear en el citosol, donde se ubican los ribosomas; en este caso, la traducción se encuentra desacoplada de la transcripción. Por esta poliadenilación, el mRNA eucariota tiene una semivida en términos de horas a días.

Los ribosomas eucariotas y procariotas difieren en muchos aspectos. Los ribosomas eucariotas son grandes y tienen un coeficiente de sedimentación de 80S en comparación con el coeficiente de sedimentación 70S de los ribosomas procariotas. Las subunidades ribosómicas eucariotas 40S y 60S son más grandes

que las subunidades correspondientes 30S y 50S de las células procariotas, los ribosomas eucariotas son relativamente ricos en proteínas. Hay diferencias inherentes significativas en la sensibilidad de las actividades ribosómicas a los antibióticos (p. ej., tetraciclinas), muchas de las cuales causan inhibición selectiva de la síntesis proteínica en células procariotas pero no en el citoplasma de células eucariotas (capítulo 9). Sin embargo, debe recordarse que los ribosomas de las **mitocondrias** en células eucariotas semejan los de las procariotas y pueden ser susceptibles a inhibidores de la síntesis de proteínas bacterianas.

Regulación de la expresión génica en células procariotas

Las proteínas específicas, productos de genes reguladores, controlan la expresión de genes estructurales que codifican enzimas. La transcripción de DNA a mRNA inicia en el **promotor**, la secuencia de DNA que se une a la polimerasa de RNA. El nivel de expresión génica depende de la capacidad del promotor para unirse a la polimerasa, y la eficacia intrínseca de los promotores difiere de forma amplia. Las proteínas reguladoras ejercen control adicional sobre la expresión génica; dichas proteínas pueden unirse a regiones de DNA cercanas a los promotores.

Muchos genes procarióticos estructurales que codifican una serie afín de reacciones metabólicas están agrupados en **operones**. Esta serie contigua de genes se expresa como una transcripción de mRNA y la expresión de la transcripción puede ser controlada por un gen regulador único. Por ejemplo, cinco genes asociados con la biosíntesis de triptófano se agrupan en el operón *trp* de *E. coli*. La expresión génica se rige por la atenuación, como se describe a continuación, y también se controla por la represión: la unión del aminoácido triptófano por parte de una **proteína represora** le confiere una conformación que le permite unirse al **operador** *trp,* una secuencia corta de DNA que regula la expresión génica. La unión de la **proteína represora** impide la transcripción de los genes *trp,* porque la bacteria percibe que existe suficiente triptófano y si sintetiza más de él, iría en contra de los mejores intereses de los recursos metabólicos de dicho microorganismo. La **represión** puede percibirse como un mecanismo que controla el curso, un método de regulación génica de todo o nada. Esta forma de control es independiente de la atenuación, un mecanismo de control fino que se utiliza para controlar la expresión génica *trp*.

La **atenuación** es un mecanismo regulador de algunas vías biosintéticas (p. ej., vía biosintética del triptófano) que controla la eficiencia de la transcripción después que ésta se ha iniciado, pero antes que tenga lugar la síntesis de mRNA de los genes del operón, en especial cuando los productos terminales de la vía son escasos. Por ejemplo, bajo condiciones normales de crecimiento, la mayor parte de la transcripción de mRNA de *trp* termina antes de que alcancen los genes estructurales del operón *trp*. Sin embargo, durante condiciones de carencia grave de triptófano, esa terminación prematura de la transcripción se suprime, lo que permite la expresión del operón en niveles 10 veces más altos de los que se observan en condiciones normales. La explicación para este fenómeno reside en la secuencia reguladora de 162 pares de bases frente a los genes estructurales *trp* (figura 7-11) conocida como **secuencia líder** o *trpL*. La secuencia líder *trp* puede transcribirse en el mRNA y más tarde traducirse en un polipéptido de 14 aminoácidos con dos residuos de triptófano adyacentes, una secuencia que tiene lugar en muy raras ocasiones. Al final de la secuencia *trpL,* y hacia las señales reguladoras que controlan la traducción de los genes estructurales *trp*, se encuentra el **codón finalizador independiente Rho**. La secuencia de DNA de esta región sugiere que el mRNA codificado tiene una alta probabilidad de formar **estructuras secundarias de asa y tallo**. Éstas se han denominado como **asa de pausa** (1:2), **asa finalizadora** (3:4) y **asa antifinalizadora** (2:3). La atenuación del operón *trp* utiliza una estructura secundaria de mRNA para percibir la cantidad de triptófano en la célula (como trp-tRNA) de acuerdo al modelo que se muestra en la figura 7-11.

La prevención de la transcripción por una proteína represora se denomina **control negativo**. La forma opuesta de regulación transcripcional (inicio de la transcripción en respuesta a la unión con una **proteína activadora**) se conoce como **control positivo**. Ambas formas de control se ejercen sobre la expresión del operón *lac*, que son genes relacionados con la fermentación de lactosa en *E. coli*. Los operones contienen tres genes estructurales. El transporte de lactosa en la célula está mediado por el producto del gen *lacY*. La β-galactosidasa es la enzima que hidroliza la lactosa a galactosa y glucosa y es codificada por el gen *lacZ*. El producto del tercer gen (*lacA*) es una transacetilasa cuya función no se ha dilucidado de manera clara.

Como un producto secundario de su función normal, la β-galactosidasa produce alolactosa, un isómero estructural de la lactosa. La lactosa por sí misma no influye en la regulación transcripcional; más bien su función depende de la alolactosa, la cual es un **inductor** del operón *lac* porque su metabolito desencadena directamente la expresión génica. En ausencia de la alolactosa, el represor *lac*, que es un producto controlado de manera independiente por el gen *lacI*, ejerce control negativo sobre la transcripción del operón *lac* al unirse con el operador *lac*. En presencia del inductor, se libera el represor del operador y ocurre la transcripción.

La expresión del operón *lac* y de muchos otros operones relacionados con la generación de energía se incrementa por la unión con la **proteína transportadora de AMP cíclico** (**CAP**, *ciclyc AMP-binding protein*) a una secuencia específica de DNA cerca del promotor para el operón regulado. La proteína ejerce control positivo al incrementar la actividad de la polimerasa de RNA. El metabolito que desencadena el control positivo al unirse a CAP es el 3′,5′-AMP cíclico (cAMP). Este compuesto formado en células privadas de energía, actúa a través de CAP para incrementar la expresión de las enzimas catabólicas que dan origen a un incremento en la energía metabólica.

El AMP cíclico no es el único con la capacidad de ejercer control sobre los genes no relacionados en *E. coli*. Varios genes diferentes responden al nucleótido ppGpp (en el cual "p" denota fosfodiéster y "G" indica guanina) como señal de ausencia de un aminoácido y los genes no relacionados se expresan como parte de la respuesta SOS al daño del DNA.

INGENIERÍA GENÉTICA

La ingeniería es la aplicación de las ciencias a las necesidades sociales. En los últimos 40 años, la bioingeniería basada en la

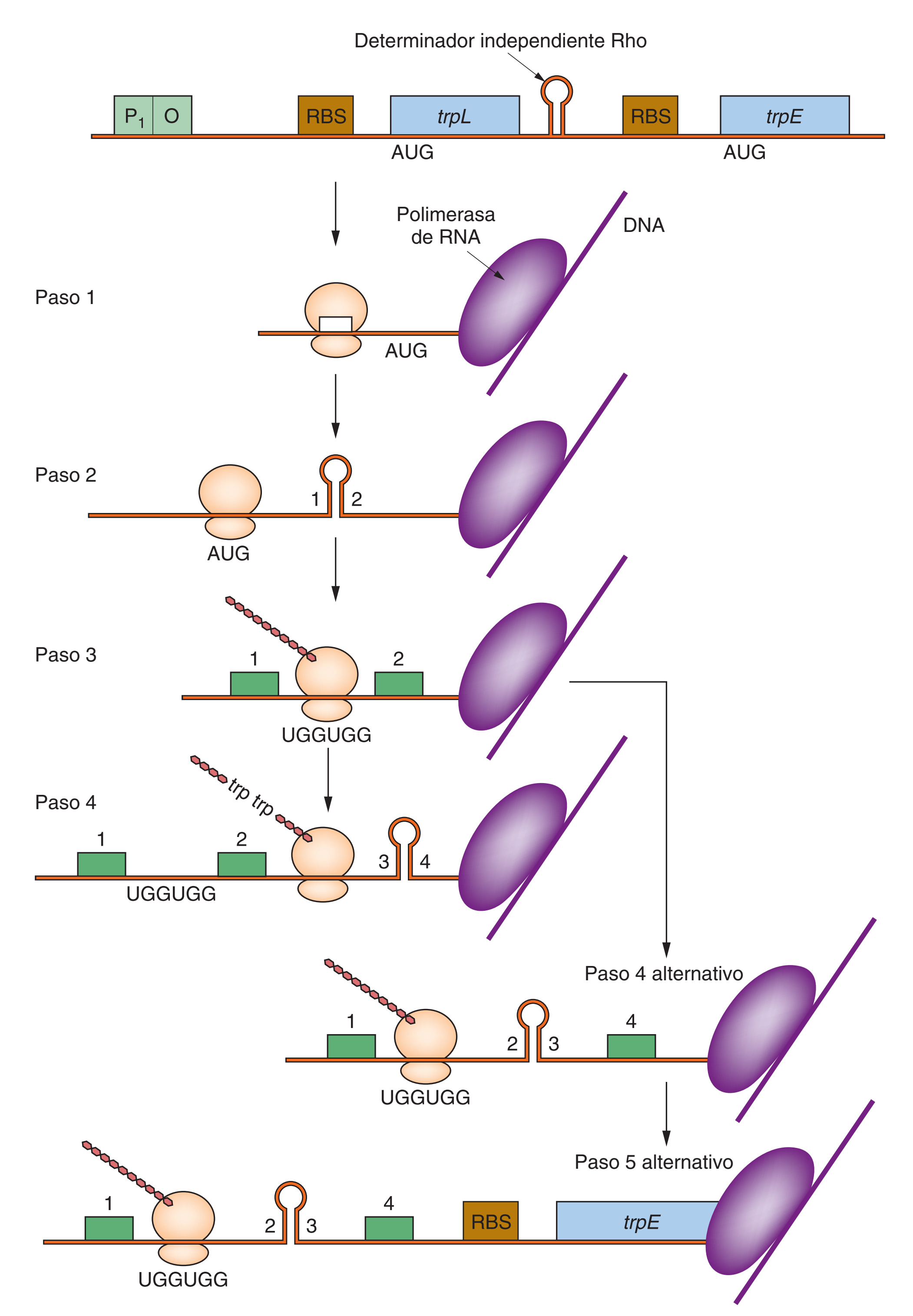


FIGURA 7-11 Modelo de atenuación de replicación bacteriana. **Paso 1.** El acoplamiento de transcripción/traducción tiene lugar como para cualquier gen bacteriano. **Paso 2.** La polimerasa de RNA hace pausa y se forma un asa 1:2. **Paso 3.** Los ribosomas interrumpen en el asa 1:2 y se encuentran con dos codones *trp*. **Paso 4**. Si hay suficiente triptófano presente los RNA cargados con trp se encuentran presentes y los ribosomas realizarán la traducción de *trpL*. Esto causa que la polimerasa de RNA se interrumpa en el determinador independiente Rho compuesto por un asa 3:4. **Paso 4 alternativo**. Si hay limitación del triptófano (sin Trp-tRNA), los ribosomas se detienen en los dos codones *trp*, en tanto que la polimerasa de RNA continúa. Se forma el asa 2:3. **Paso 5 alternativo**. El determinador 3:4 no puede formarse y la polimerasa de RNA continúa la transcripción en genes estructurales *trp*. Esto expone el sitio de unión del ribosoma (RBS) antes de *trpE*, lo que permite la traducción. (Reproducida con autorización de Trun N, Trempy J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Copyright © 2004 por Blackwell Science Ltd. Con autorización de Wiley.)

genética bacteriana ha transformado la biología. Es posible aislar fragmentos específicos de DNA y amplificarse, y sus genes pueden expresarse en concentraciones elevadas. La especificidad de los nucleótidos necesarios para el desdoblamiento de las enzimas de restricción permite que los fragmentos que contienen genes o partes de los mismos se unan (incorporen) a los plásmidos (vectores) que pueden usarse a su vez para transformar a las células bacterianas. Las colonias bacterianas o **clonas** portan genes específicos que pueden identificarse por **hibridación** de DNA o RNA con **sondas marcadas** (similares a las que se muestran en la figura 3-4). De manera alternativa, los productos proteínicos codificados por los genes pueden identificarse ya sea por actividad enzimática o por técnicas inmunológicas. Así, pueden utilizarse técnicas de ingeniería genética para aislar prácticamente cualquier gen, por lo que dichos genes pueden expresarse de forma tal que es posible estudiar o explotar las propiedades bioquímicas identificables.

Los genes aislados pueden utilizarse para diversos propósitos. La **mutagénesis de sitio dirigido** puede identificar y alterar la secuencia de DNA de un gen. Es posible determinar y, si se desea, alterar los residuos de nucleótidos esenciales para las funciones de los genes. Con las técnicas de hibridación, el DNA puede utilizarse como una sonda que reconozca los ácidos nucléicos correspondientes a las secuencias complementarias de su propio DNA. Por ejemplo, un virus latente en un tejido animal se detecta con una sonda de DNA incluso en ausencia de infección viral evidente. Los productos proteínicos de los genes virales aislados ofrecen una gran promesa como vacunas porque se preparan sin genes que codifican la replicación de ácido nucleico viral. Por ejemplo, las proteínas de la cápside del virus del papiloma humano se clonaron y expresaron; se les llama partículas similivíricas no infecciosas (VLP, *virus-like particles*) y forman la base de una vacuna contra cepas transformadoras de este virus. Además, proteínas como la insulina que tienen funciones útiles pueden prepararse en grandes cantidades a partir de bacterias que expresan los genes clonados.

Preparación de fragmentos de DNA con enzimas de restricción

La diversidad genética de las bacterias se refleja por su amplia gama de **enzimas de restricción**, las cuales poseen una selectividad notable que les permite identificar regiones específicas de DNA para su desdoblamiento. Las secuencias de DNA reconocidas por enzimas de restricción son de manera predominante palíndromos (secuencias de repeticiones invertidas). Una secuencia típica en palíndromo, reconocida por *Eco*R1, una enzima de restricción más utilizada, es GAATTC; la repetición invertida, inherente en su complementariedad en los pares de bases G-C y A-T, da origen a la secuencia 5′ TTC que se refleja como AAG en la cadena 3′.

La longitud de los fragmentos de DNA producidos por enzimas de restricción varía en gran medida por la individualidad de secuencias de DNA. La longitud promedio de los fragmentos de DNA depende en gran parte del número de bases específicas reconocidas por una enzima. La mayor parte de las enzimas de restricción reconoce cuatro, seis u ocho secuencias de bases; sin embargo, otras enzimas de restricción reconocen 10, 11, 12 o 15 secuencias de bases. El reconocimiento de cuatro bases da origen a fragmentos con una longitud promedio de 250 pares de bases y por lo tanto suele ser útil para el análisis o manipulación de fragmentos génicos. Con frecuencia genes completos son abarcados por enzimas de restricción que reconocen seis bases y producen fragmentos con un tamaño promedio de 4 kbp. Las enzimas de restricción que reconocen ocho bases producen fragmentos con un tamaño típico de 64 kbp y son útiles para el análisis de regiones genéticas grandes. Las enzimas de restricción que reconocen más de 10 bases son útiles para la construcción de un mapa físico y de la tipificación molecular mediante electroforesis en gel en un campo de pulsos.

Separación física de fragmentos de DNA de tamaño diferente

Gran parte de la simplicidad de las técnicas de ingeniería genética yace en el hecho de que la **electroforesis en gel** permite la separación de fragmentos de DNA con base en el tamaño (figura 7-12): mientras más pequeños los fragmentos, más rápida será la tasa de migración. La tasa general de migración y el intervalo óptimo de tamaño para la separación puede determinarse con base en la naturaleza química del gel y el grado de formación de enlaces cruzados. Los geles con alto grado de enlaces cruzados optimizan la separación de fragmentos pequeños de DNA. El colorante **bromuro de etidio** forma un aducto de color floreciente brillante que se une al DNA, de forma que pequeñas cantidades de fragmentos separados de DNA pueden visualizarse sobre los geles (figura 7-12A). Fragmentos específicos de DNA pueden identificarse por sondas que contienen secuencias complementarias (figuras 7-12B y C).

La **electroforesis en gel en campo de pulsos** permite la separación de fragmentos de DNA que contienen hasta 100 kbp que se separan en geles de poliacrilamida de alta resolución. La identificación de fragmentos tan grandes ha permitido la construcción de un mapa físico para los cromosomas de varias especies bacterianas y han sido de gran utilidad para la identificación de huellas genéticas de aislados bacterianos relacionados con brotes epidémicos de enfermedades infecciosas.

Clonación de fragmentos de restricción de DNA

Muchas enzimas de restricción producen desdoblamiento asimétrico y fragmentos de DNA con **extremos cohesivos (adhesivos)** que pueden hibridizarse con otros fragmentos. Este DNA puede utilizarse como donador con un plásmido receptor para formar un plásmido recombinante por medio de ingeniería genética. Por ejemplo, el desdoblamiento de DNA con *Eco*R1 produce DNA que contiene una secuencia AATT en el extremo 5′ y la secuencia complementaria TTAA en el extremo 3′ (figura 7-13). El desdoblamiento de un plásmido con la misma enzima de restricción produce un fragmento lineal con extremos adhesivos que son idénticos uno con otro. La eliminación enzimática de los grupos de fosfato libres de estos extremos asegura que no se unirán para formar el plásmido circular original. La ligadura en presencia de otros fragmentos de DNA que contienen grupos de fosfato libres genera

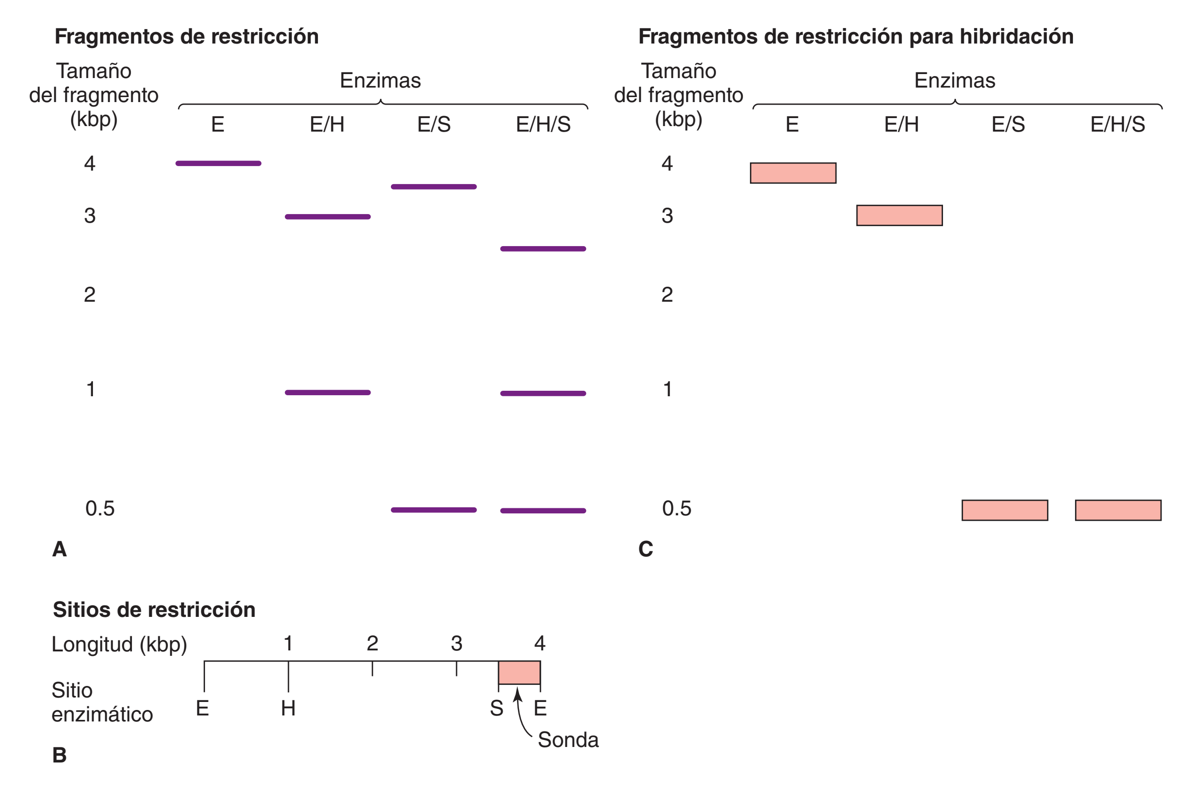


FIGURA 7-12 **A:** separación de los fragmentos de DNA con base en el tamaño por electroforesis en gel. Los fragmentos pequeños migran con mayor rapidez que los fragmentos grandes y en un intervalo determinado por las propiedades del gen, la distancia de migración proporciona en términos generales el logaritmo del tamaño del fragmento. Los fragmentos de DNA pueden visualizarse con base en su florescencia después de la tinción con colorante. **B:** el tamaño de los fragmentos de restricción depende de su ubicación en los sitios de restricción en el DNA. En este ejemplo, un fragmento de 4 pares de kilobases (kbp) formado por enzimas de restricción *EcoR1* (E) contiene los sitios respectivos para las enzimas de restricción *Hin*dIII (H) y *Sal*I (S) en las posiciones correspondientes a 1 y 3.5 kbp. El patrón de electroforesis en **A** revela que la enzima de restricción E no corta el fragmento de 4 kbp (primer trayecto); el desdoblamiento con enzima de restricción H produce fragmentos de 3 y 1 kbp (segundo trayecto); el desdoblamiento con enzima de restricción S da origen a fragmentos de 3.5 y 0.5 kbp (tercer trayecto) en tanto que el desdoblamiento de los fragmentos H y S forma fragmentos de 2.5, 1 y 0.5 kbp (cuarto trayecto). Los fragmentos de 0.5 kbp se encuentran entre los sitios S y E, que se eligieron como sonda para determinar el DNA con secuencias de hibridación, como se muestra en C. **C:** Identificación de fragmentos de hibridación. Los fragmentos de restricción se separaron como se observa en A. El procedimiento de hibridación revela los fragmentos que se sometieron a hibridación con una sonda de 0.5 kbp. Estos son fragmentos de 4 kbp formados por enzimas de restricción E, el fragmento de 3 kbp que se encuentra entre los sitios E y H, y el fragmento de 0.5 kbp que se encuentra entre los sitios S y H.

plásmidos recombinantes, que poseen fragmentos de DNA en la forma de insertos dentro del DNA circular cerrado covalentemente. Los plásmidos deben tener forma circular para mostrar réplica dentro de la bacteria hospedadora.

Los plásmidos recombinantes pueden introducirse en el hospedador bacteriano, con frecuencia *E. coli*, por medio de **transformación forzada**. La **electroporación** es un procedimiento que introduce DNA en la bacteria utilizando un gradiente eléctrico. Las células transformadas pueden seleccionarse con base en uno o más factores de resistencia a fármacos codificados por los genes de los plásmidos. La población bacteriana resultante contiene una **biblioteca** de plásmidos recombinantes que portan varias clonas de fragmentos de restricción insertados, derivados del DNA del donador. Las técnicas de hibridación pueden utilizarse para identificar colonias bacterianas portadoras de fragmentos de DNA específico (figura 7-14) o, si el plásmido expresa el gen insertado, las colonias pueden tamizarse para el producto génico por un anticuerpo específico para la proteína producida.

IDENTIFICACIÓN DEL DNA CLONADO

Mapa de restricción

La manipulación del DNA clonado requiere la comprensión de su secuencia de ácidos nucleicos. La preparación de un **mapa de restricción** es la primera etapa en la obtención de dicho conocimiento. Un mapa de restricción se construye en forma muy similar a un rompecabezas a partir de fragmentos producidos por **digestión simple**, los cuales se preparan con enzimas de restricción individuales. Los mapas de restricción también son el paso inicial hacia la secuenciación de DNA porque identifican fragmentos que proporcionarán **subclonas** (fragmentos relativamente pequeños de DNA) que se someten a un análisis más riguroso, que puede incluir la secuenciación del DNA. Además, los mapas de restricción proporcionan información muy específica respecto a las bases, que permite que los fragmentos de DNA, que se identifican con base en el tamaño, se asocien con funciones génicas específicas.

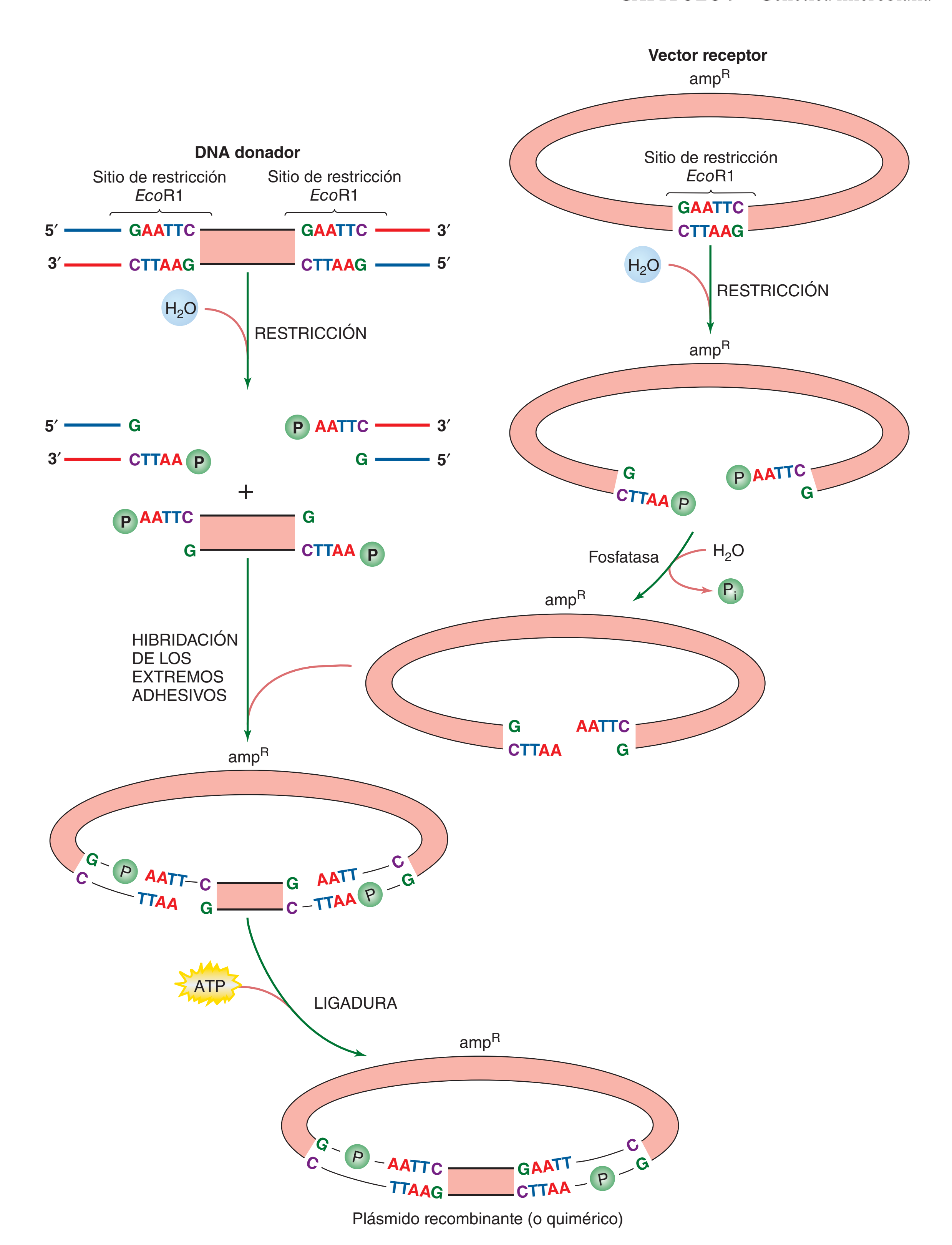


FIGURA 7-13 Formación de un plásmido recombinante o quimérico a partir de DNA detonador y un vector del receptor. El vector es un plásmido que porta el sitio de restricción *Eco*R1, que sufre desdoblamiento por enzimas y se prepara para ligadura mediante la eliminación de los grupos fosfato terminales. Este paso evita que los extremos adhesivos del plásmido se unan en ausencia de material insertado. El DNA donador se trata con las mismas enzimas de restricción y un enlace covalente cierra la molécula mediante una ligadura. Un marcador de resistencia farmacológica, mostrado como amp^R en el plásmido puede utilizarse para seleccionar los plásmidos recombinantes después de su transformación en la *Escherichia coli*. Las enzimas de la bacteria hospedadora completan el enlace covalente del DNA circular y media su replicación.

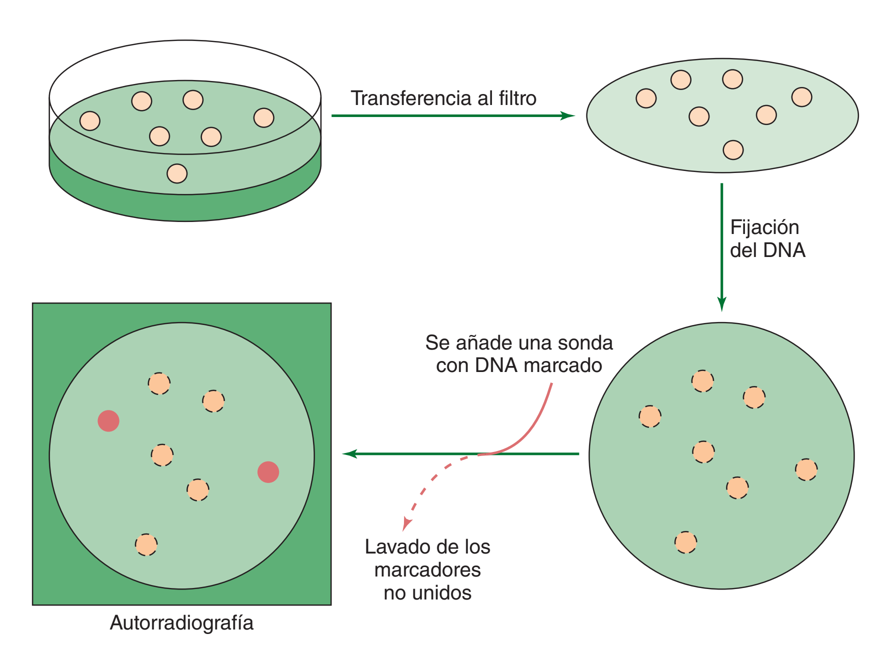


FIGURA 7-14 Uso de sondas para identificar clonas que contienen fragmentos específicos de DNA. Las colonias pueden transferirse a un filtro y calentarse de forma tal que las células se destruyan y el DNA se adhiera al filtro. Más tarde, el filtro puede ser tratado con una solución que contenga una sonda de DNA marcada en forma apropiada, lo que produce hibridación específica con las clonas deseadas. La autorradiografía subsiguiente del filtro identifica estas clonas (*círculos oscuros*). Las clonas también pueden ser expuestas a sondas con anticuerpos para saber si sintetizan un producto proteínico específico.

Secuenciación

La secuenciación de DNA muestra la estructura génica y permite a los investigadores deducir la secuencia de aminoácidos de los productos génicos. A su vez, esta información hace posible manipular los genes en orden para comprender o alterar su función. Además, el análisis de secuencias de DNA revela regiones reguladoras que controlan la expresión génica y "puntos calientes" genéticos que son en particular susceptibles a la mutación. La comparación de secuencias de DNA revela relaciones evolutivas que proporcionan un marco de referencia para la clasificación sin ambigüedades de especies bacterianas. Tales comparaciones pueden facilitar la identificación de regiones conservadas que pueden ser en especial útiles como sondas específicas de hibridación para detectar organismos o virus en una muestra clínica.

El método original para conocer la secuencia de DNA utilizó la **técnica de Maxam-Gilbert** que depende de la susceptibilidad química relativa de diferentes enlaces de nucleótidos. Las técnicas utilizadas cambiaron enormemente para el uso del **método de Sanger (terminación dideoxi)** que interrumpe la elongación de las secuencias de DNA al incorporar didesoxinucleótidos al interior de las secuencias. Ambas técnicas producen un grupo de oligonucleótidos que inician de un solo origen e implica la separación de cadenas de secuencias de DNA en gel que difieren por el incremento de un solo nucleótido. La secuenciación en gel de poliacrilamida separa cadenas que difieren en longitud desde uno hasta varios cientos de nucleótidos y revela secuencias de DNA de longitudes variables.

Cuatro trayectos paralelos sobre el mismo gel revelan la longitud relativa de las cadenas sometidas a terminación didesoxi en adenina, citidina, guanina y timidina. La comparación de los cuatro trayectos que contienen la reacción se mezcla de forma tal que difieren únicamente en el método de terminación de la cadena, lo que hace posible determinar la secuencia de DNA por el método de Sanger (figura 7-15). La relativa simplicidad del método de Sanger ha conducido a su uso más generalizado, pero la técnica de Maxam-Gilbert se emplea de manera amplia porque puede exponer regiones de DNA que están protegidas por proteínas específicas contra modificaciones químicas.

La secuenciación de DNA se facilita en gran medida por la manipulación genética del bacteriófago M13 de *E. coli*, el cual

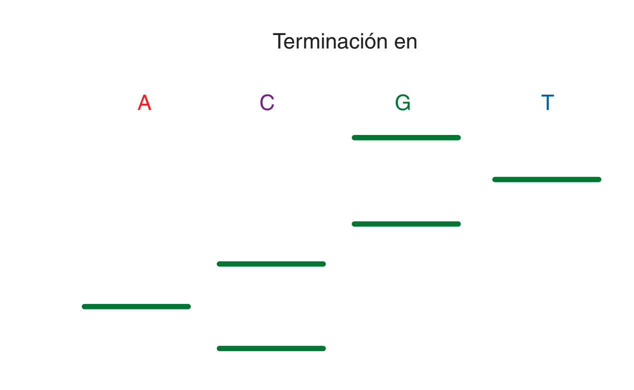


FIGURA 7-15 Determinación de la secuencia de DNA por el método de Sanger (terminación didesoxi). La elongación enzimática del DNA se interrumpe por la inclusión de análogos didesoxi de trinucleótidos correspondientes con A, C, G y T por separado en mezclas de reacciones paralelas. El grupo resultante de cadenas elongas interrumpidas se separa por secuenciación en gel y puede deducirse la secuencia al notar la base que corresponde a cada incremento en la longitud de la cadena. La secuenciación en gel se lee de abajo hacia arriba, y cada línea corresponde con un incremento en una base.

contiene DNA monocatenario. La forma retrospectiva del DNA del fago es un DNA bicatenario circular cerrado por un enlace covalente, producido por ingeniería genética de forma tal que contenga un sitio de clonación múltiple que permita la integración de fragmentos específicos de DNA que se han identificado previamente por mapeo de restricción. Las bacterias infectadas con la forma replicativa secretan fagos modificados que contienen, en el interior de su envoltura proteínica, ssDNA que incluye la secuencia insertada. Este DNA actúa como **plantilla** para reacciones de elongación. El origen para la elongación depende de un **cebador** de DNA que puede sintetizarse por máquinas automatizadas para la **síntesis química de oligonucleótidos**. Tales máquinas pueden producir cadenas de DNA que contienen 75 o más oligonucleótidos en una secuencia predeterminada y son esenciales para la secuenciación y para la modificación del DNA por mutagénesis dirigida al sitio.

Los oligonucleótidos sintetizados por medios químicos pueden servir como cebadores para la **reacción en cadena de polimerasa** (**PCR**, *polymerase chain reaction*), un procedimiento que permite la amplificación y secuenciación del DNA que se encuentra entre los cebadores. Así, en muchos casos, el DNA no necesita ser clonado a fin de secuenciarse o para que esté disponible para procedimientos de ingeniería genética.

El estudio de la biología se ha revolucionado con el desarrollo de tecnología que permite la secuenciación y análisis de la totalidad de los genomas, que varía desde virus, microorganismos unicelulares procariotas y eucariotas hasta seres humanos. Esto se ha facilitado con el uso de un procedimiento conocido como **escopetazo** (***shotgunning***). En este procedimiento, el DNA se rompe en fragmentos más pequeños para crear una biblioteca de fragmentos. Tales fragmentos desordenados son secuenciados por secuenciadores de DNA automáticos y se reensamblan utilizando programas de cómputo poderosos. Un número suficiente de fragmentos son secuenciados para asegurar que se abarque la totalidad del genoma de forma que cuando se ensamblen, la mayor parte del genoma se represente sin dejar demasiadas brechas. (Para lograr esto, la totalidad del genoma por lo común se revisa cinco a ocho veces, con lo que se deja casi 0.1% del total de DNA sin secuenciar.) Después que los fragmentos aleatorios se han ensamblado por medio de áreas con superposición de secuencias, todos los espacios remanentes deben identificarse y cerrarse. Los datos avanzados de procesamiento permiten la anotación de los datos de la secuencia en la cual se identifican regiones putativas de codificación, operones y secuencias reguladoras. Los genomas de varios microorganismos importantes han sido secuenciados. El análisis continuo de los datos de secuenciación de patógenos humanos importantes combinados con los estudios de patogenia molecular facilitará la comprensión de la forma en que estos organismos causan enfermedad y por último, llevarán a la producción de mejores vacunas y mejores estrategias terapéuticas.

MUTAGÉNESIS DIRIGIDA AL SITIO

La síntesis química de oligonucleótidos permite a los investigadores realizar una introducción controlada de sustituciones de bases en la secuencia de DNA. La sustitución especificada puede utilizarse para explorar los efectos de una mutación prediseñada sobre la expresión génica, con el fin de examinar la contribución de un aminoácido sustituido para una función proteínica o (con base en la información previa respecto a los residuos esenciales para su función) a fin de inactivar un gen.

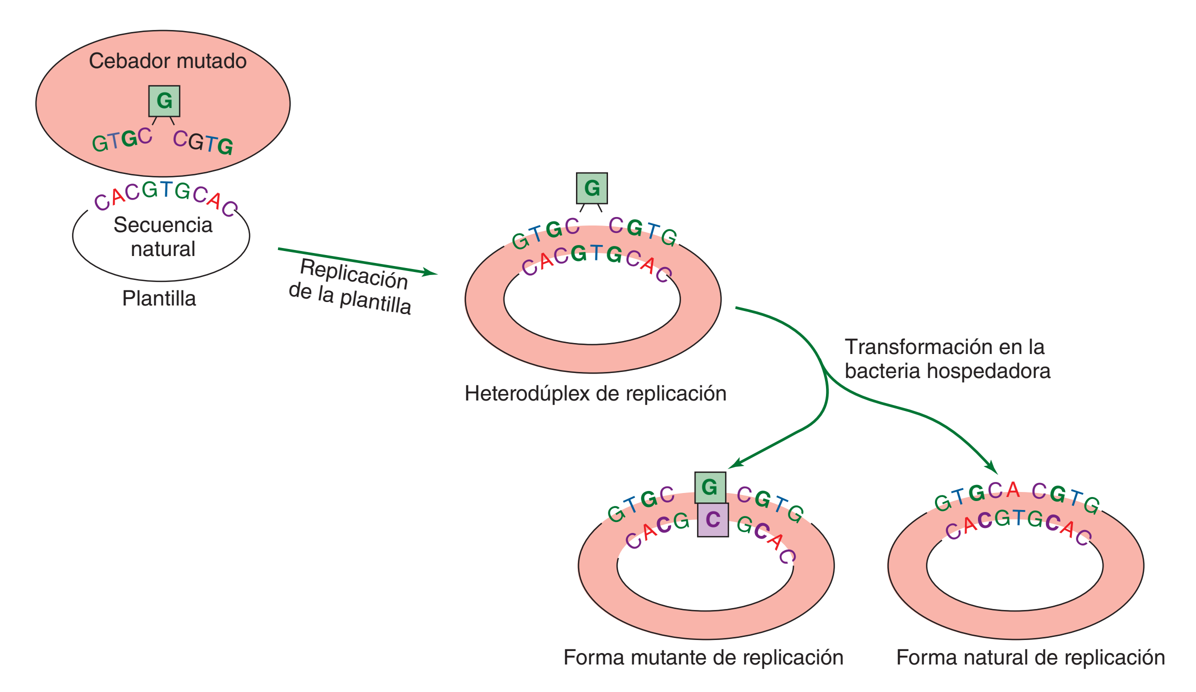


FIGURA 7-16 Mutagénesis dirigida al sitio. Un cebador sintetizado por medios químicos que contiene la mutación G (en el recuadro) se hibridiza con una secuencia natural insertada en el DNA a partir de un fago monocatenario. Se utilizan reacciones de polimerización para formar heterodúplex bicatenario que porta la mutación en una cadena. La introducción del heterodúplex en la bacteria hospedadora seguida de segregación produce cepas que portan la forma de replicación con el DNA natural insertado o un fragmento insertado que adquiere la mutación química diseñada.

Los oligonucleótidos monocatenarios que contienen la mutación específica se sintetizan por medios químicos y se someten a hibridación con un fago con DNA monocatenario, el cual lleva insertada la secuencia natural (figura 7-16). El DNA bicatenario parcialmente resultante se convierte por medios enzimáticos a una forma bicatenaria replicativa. Este DNA, que contiene la secuencia natural en una cadena y la secuencia mutante en otra se utiliza para infectar a la bacteria que actuará como hospedador mediante transformación. La replicación da origen a la segregación de DNA mutante y natural, y el gen mutante bicatenario puede ser aislado y más tarde clonado a partir de la forma replicativa del fago.

ANÁLISIS CON DNA CLONADO: SONDAS DE HIBRIDACIÓN

Las sondas de hibridación (transferencia de Southern, figura 3-4) se utilizan de manera habitual para la clonación de DNA. La secuencia de aminoácidos de una proteína puede utilizarse para deducir la secuencia de DNA por medio de la cual puede construirse una sonda y emplearse para detectar colonias bacterianas que contengan el gen clonado. El **DNA complementario (cDNA**, *complementary DNA*) codificado por mRNA puede utilizarse para detectar el gen que codifica dicho mRNA. La hibridación de DNA a RNA por el método de membrana de **Northern** puede proporcionar información cuantitativa respecto a la síntesis de RNA. Las secuencias específicas de DNA en fragmentos de restricción separados en gel pueden revelarse por medio del método de **transferencia de Southern**, un método que utiliza la hibridación de DNA a DNA. Estos métodos pueden utilizarse para detectar superposición de fragmentos de restricción. La clonación de estos fragmentos hace posible aislar las regiones que rodean al DNA por una técnica conocida como **deslizamiento cromosómico**. Otra técnica de detección empleada con frecuencia es la **transferencia de tipo Western**, donde se utilizan anticuerpos para detectar genes clonados mediante la unión con sus productos proteínicos.

Pueden utilizarse sondas en una amplia gama de procedimientos analíticos. Algunas regiones de DNA humano muestran variación sustancial en la distribución de sitios de restricción. Esta variabilidad se denomina **polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción** (**RFLP**, *restriction fragment length polymorphism*). Las sondas de oligonucleótidos que producen hibridación con fragmentos de DNA de RFLP pueden utilizarse para rastrear DNA a partir de muestras pequeñas de su donador humano. Así, la técnica es útil para la ciencia forense. Las aplicaciones de RFLP para la medicina incluyen la identificación de regiones genéticas que tienen relación estrecha con genes humanos con disfunción que están relacionados con enfermedades genéticas. Esta información ha sido de gran utilidad y continua siéndolo en el **consejo genético**.

Las sondas de DNA ofrecen la promesa de técnicas para la identificación rápida de microorganismos de crecimiento lento en muestras clínicas que son difíciles de cultivar en un laboratorio de microbiología. Además, extensiones de la técnica ofrecen oportunidades para identificar agentes patógenos en forma rápida y directa en tejidos infectados. Se encuentran disponibles en el mercado equipos para la identificación de muchos patógenos bacterianos y virales.

La aplicación de sondas diagnósticas de DNA requiere apreciar: 1) a las sondas mismas; 2) a los sistemas utilizados para detectar las sondas; 3) los objetivos (el DNA con el cual ocurrirá hibridación con las sondas) y 4) las condiciones de la hibridación. Las sondas pueden ser fragmentos de restricción relativamente grandes derivados del DNA clonado o de oligonucleótidos correspondientes a una región específica del DNA. Las sondas grandes pueden proporcionar gran precisión porque son menos sensibles a los cambios de una sola base en el DNA estudiado. Por otra parte, las reacciones de hibridación ocurren con mayor rapidez con sondas pequeñas, y pueden ser diseñadas contra regiones conservadas de DNA en las cuales es poco probable que ocurran sustituciones de bases. Las amplificaciones de una región estudiada por PCR seguida por detección de un producto amplificado después de hibridación con una sonda han demostrado mayor sensibilidad que los métodos de detección directa.

En fechas recientes han ocurrido mejorías significativas en los métodos para pruebas diagnósticas moleculares, en especial aquellas que incorporan tecnologías de amplificación de ácidos nucléicos como PCR. A nivel comercial, se encuentran disponibles varios instrumentos que combinan la amplificación de PCR del DNA estudiado de amplicones en el mismo contenedor cerrado. Esta tecnología se conoce como **PCR en tiempo real**, lo que implica que los amplicones de PCR pueden detectarse y cuantificarse en tiempo real. En la actualidad "tiempo real" se refiere a la detección de amplicones después de cada ciclo de PCR. Los formatos de detección con sonda implican la detección de fluoróforos. Los resultados son semicuantitativos y pueden obtenerse en un tiempo considerablemente menor que el necesario para realizar un análisis de PCR convencional.

MANIPULACIÓN DEL DNA CLONADO

Las técnicas de ingeniería genética permiten la separación y expresión completamente independiente de genes relacionados con los patógenos. Las vacunas preparadas con genes creados por ingeniería genética permiten medidas de seguridad que no era posible lograr con anterioridad. Por ejemplo, puede prepararse una vacuna contra una proteína de la cubierta viral (antígeno de superficie del virus de la hepatitis B) que fue producida en ausencia de cualquier gen relacionado con las funciones de replicación viral; la inoculación con tales vacunas no implica el riesgo de introducir un virus funcional. Las dificultades potenciales en el desarrollo de tales vacunas radica en la facilidad con la cual las mutaciones virales pueden producir variantes genéticas que no son reconocidas por el sistema inmunitario de defensa de un individuo vacunado. Por último, las vacunas actuales (y en el futuro) contienen una amplia gama de proteínas que anticipan la respuesta genética del patógeno.

Cepas recombinantes en el medio ambiente

Los avances científicos importantes han desencadenado en ocasiones reacciones públicas adversas, de forma que es prudente considerar las consecuencias potenciales de la ingeniería genética. Un tema de preocupación más inmediata es conocer

si los patógenos han sufrido relativamente pocas modificaciones genéticas. Éstas deben ser investigadas en laboratorios diseñados especialmente para controlar a los microorganismos. La necesidad de contención disminuye después que los genes para las funciones específicas, como cubiertas proteínicas, son separados de los genes relacionados con la replicación o toxicidad de un patógeno. Sobre todo, deben observarse las precauciones estándar relacionadas con laboratorios de microbiología, principalmente porque fomentan hábitos que son de utilidad si un patógeno potencial entra al laboratorio.

Excepciones interesantes a esta regla general son los microorganismos creados por ingeniería genética que pueden proporcionar beneficios sociales si se introducen al medio ambiente. Muchos microorganismos se derivan de bacterias no patógenas que se presentan naturalmente con frecuencia de hasta 10^5/g de tierra. La evidencia disponible sugiere que la depredación y competencia eliminan con rapidez a las cepas de bacterias creadas por ingeniería genética después que se introducen al medio ambiente. El reto primario sería mantener los beneficios biológicos en el medio ambiente de los microorganismos modificados por ingeniería genética, más que eliminarlos. Sin embargo, esto no está exento de consecuencias sociales. Entre los ejemplos de microorganismos modificados por ingeniería genética se encuentran las cepas de *Pseudomonas* que producen una proteína que favorece la formación de cristales de hielo. La utilidad de estos organismos naturales es apreciada por propietarios dependientes utilizados para el esquí, quienes de manera deliberada introducen las bacterias en el ambiente sin despertar preocupaciones del público en general. Un efecto secundario desafortunado de la introducción de estos microorganismos es que los cristales de hielo favorecen el daño de cultivos, por ejemplo de la lechuga, durante la temporada en la cual es probable que se presenten heladas leves. Las bacterias mutantes que no forman cristales de hielo se diseñaron por microbiólogos quienes esperan que el microorganismo mutante pueda proteger los cultivos de lechuga al ocupar temporalmente el nicho que normalmente no es habitado por cepas formadoras de hielo; sin embargo, los intentos para utilizar microorganismos mutantes en estudios de campo se acompañaron de protestas sustanciales y los estudios se realizaron sólo después de procesos judiciales prolongados y costosos. Los precedentes legales que han surgido de lo anterior, además de otras aplicaciones similares recientes, establecerán las guías respecto al uso progresivo y beneficioso de las técnicas de bioingeniería genética y facilitarán el conocimiento de situaciones en que está justificada la cautela extrema.

OBJETIVOS

1. Describir la estructura de un nucleótido, un par de bases y la estructura líneal y tridimensional de DNA bicatenario.
2. Conocer las diferencias entre RNA y DNA en lo referente a estructura, complejidad y tamaños relativos.
3. Identificar las funciones de formas de RNA, por ejemplo, mRNA, rRNA, tRNA y ribozimas.
4. Detallar las diferencias básicas entre un cromosoma procariótico y otro eucariótico.
5. Explicar específicamente los términos que se han aplicado a la recombinación bacteriana y la transferencia genética: transposones, conjugación, transformación y transducción.
6. Describir los mecanismos de mutación bacteriana y redisposición génica.
7. Articular los medios fundamentales por los cuales son transcritos los genes bacterianos que incluyan los conceptos de transcripción y traducción acopladas, activador, represor y atenuación.
8. Señalar las diferencias entre ribosomas eucarióticos y los procarióticos y describir las fases en la traducción ribosómica procariótica
9. Comprender el concepto de bioingeniería genética y comentar los instrumentos importantes que intervienen en tal proceso (como enzimas restrictivas, ligadura, clonación y expresión).
10. Describir los instrumentos que permiten la identificación del DNA: restricción, mapeo, secuenciación, mutagénesis, hibridación y otros métodos de detección.
11. Apreciar los beneficios y posibles aspectos negativos de bacterias recombinantes (obtenidas por bioingeniería) en el entorno.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál es el mecanismo por el que pueden surgir mutaciones en las bacterias?
   (A) Sustitución de bases
   (B) Deleciones
   (C) Inserciones
   (D) Reordenamiento
   (E) Todas las anteriores
2. La forma de intercambio genético en el cual el DNA donador se introduce en el receptor por medio de un virus bacteriano es:
   (A) Transformación
   (B) Conjugación
   (C) Transfección
   (D) Transducción
   (E) Transferencia horizontal
3. La enzima DNAsa degrada el DNA desnudo. Si dos cepas de bacterias de la misma especie se mezclaron en presencia de DNAsa, ¿cuál método de transferencia génica sería inhibido con mayor probabilidad?
   (A) Conjugación
   (B) Transducción
   (C) Transformación
   (D) Transposición
   (E) Todos los anteriores
4. La replicación, ¿de cuál de los siguientes requiere la integración física con el replicón bacteriano?
   (A) Bacteriófago con DNA monocatenario
   (B) Bacteriófago con DNA bicatenario
   (C) Bacteriófago con RNA monocatenario
   (D) Plásmido
   (E) Transposón
5. La transformación de un par de bacterias durante el proceso de conjugación en la *Escherichia coli* requiere:
   (A) Lisis del donador
   (B) Una pilosidad sexual

(C) Transferencia de DNA bicatenario
(D) Una endonucleasa de restricción
(E) Integración de un transposón

6. ¿Por qué las bacterias contienen enzimas de restricción?
(A) Para fisurar el RNA con la finalidad de que se incorpore a los ribosomas
(B) Para aumentar la longitud de cromosomas bacterianos
(C) Para evitar que DNA extraño se incorpore al genoma bacteriano
(D) Para procesar los exones de mRNA procariótico
(E) Para fracturar proteolíticamente promotores nucleares

7. Si la secuencia de bases en una hebra de DNA codificador es $^{5'}$**CATTAG**$^{3'}$, entonces ¿cuál de las secuencias de mRNA siguientes sería su complemento en la otra cadena?
(A) $^{5'}$**GTAATC**$^{3'}$
(B) $^{5'}$**CUAAUG**$^{3'}$
(C) $^{5'}$**CTAATG**$^{3'}$
(D) $^{5'}$**GUAAUC**$^{3'}$
(E) $^{5'}$**CATTAG**$^{3'}$

Respuestas

1. E
2. D
3. C
4. E
5. B
6. C
7. B

BIBLIOGRAFÍA

Alberts B, *et al.: Molecular Biology of the Cell*, 4a. ed. Garland, 2002.

Avery O, Mcleod C, McCarty M: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J Exp Med* 1944;79(2):137.

Barlow M: What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. *Methods Mol Biol* 2009;532:397-411.

Bushman F: *Lateral DNA Transfer. Mechanisms and Consequences*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002.

Condon C: RNA processing and degradation in *Bacillus subtilis*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:157.

Fraser CM, Read TD, Nelson KE (editors): *Microbial Genomes*. Humana Press, 2004.

Grohmann E, Muuth G, Espinosa M: Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:277.

Hatfull GF: Bacteriophage genomics. *Curr Opin Microbiol* 2008;5:447.

Kornberg A, Baker T: *DNA Replication*, 2a. ed. Freeman, 1992.

Lengler JW, Drews G, Schlegel HG (editors): *Biology of the Prokaryotes*. Blackwell Science, 1999.

Liebert CA, Hall RM, Summers AO: Transposon Tn*21*, flagship of the floating genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999;63:507.

Murray NE: Type I restriction systems: Sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:412.

Ptashne M: *A Genetic Switch: Phage Lambda and Higher Organisms*, 2a. ed. Blackwell, 1992.

Rawlings DE, Tietze E: Comparative biology of IncQ and IncQ-like plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:481.

Reischl U, Witter C, Cockerill F (editors): *Rapid Cycle Real-Time PCR—Methods and Applications*. Springer, 2001.

Rhodius V, Van Dyk TK, Gross C, LaRossa RA: Impact of genomic technologies on studies of bacterial gene expression. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:599.

Sambrook J, Russell NO: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3a. ed. Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

Singleton P, Sainsbury D: *A Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 3a. ed. Wiley, 2002.

Trun N, Trempy J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Blackwell Science Ltd, 2004.

Van Belkum A, Scherer S, van Alphen L, Verbrugh H: Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:275.

CAPÍTULO 8

Inmunología

GENERALIDADES

La función del sistema inmunitario es conferir protección. Actúa como un mecanismo de defensa del hospedador contra enfermedades infecciosas y antígenos externos (ajenos). Para lograr este objetivo, el sistema inmunitario cuenta con un mecanismo de respuesta rápida, especificidad exquisita, adaptabilidad, una red reguladora intrincada y memoria.

En las últimas décadas han ocurrido progresos dramáticos en el área de la inmunología. En consecuencia, se han logrado avances significativos no sólo en el ámbito de la investigación sino también en el campo de la clínica y el diagnóstico. Estos progresos han permitido comprender mejor la forma en la que el sistema inmunitario trabaja y han proporcionado conocimientos sobre una variedad de trastornos inmunitarios, como infecciones, alergias, enfermedades autoinmunitarias, inmunodeficiencias, cáncer y trasplantes. Esta información ha permitido mejorar el diagnóstico y el control de estos pacientes e integrar nuevas estrategias de tratamiento.

Este capítulo se enfoca en los principios básicos de la inmunología y la forma particular en la que se relacionan con la respuesta a las infecciones. En la bibliografía se presentan referencias mucho más detalladas sobre los diversos aspectos del sistema inmunitario.

Respuesta inmunitaria

El sistema inmunitario defiende al hospedador contra patógenos al utilizar diferentes mecanismos de reconocimiento que eliminan de forma efectiva al microbio invasor o a sus productos. Una reacción generada contra un patógeno potencial se llama **respuesta inmunitaria**. La primera línea de defensa, que no es específica para el agente invasor, se moviliza con rapidez hacia el sitio infectado, pero carece de memoria inmunitaria. A esta respuesta se le llama **inmunidad innata**. El segundo sistema de defensa se conoce como **inmunidad adaptativa**. Ésta es específica para el patógeno infeccioso y confiere inmunidad protectora contra reinfecciones subsiguientes. La inmunidad adaptativa es capaz de reconocer y destruir de manera específica a los patógenos porque los linfocitos portan receptores celulares especializados y producen anticuerpos específicos. Una proteína que se produce en respuesta a un patógeno particular se conoce como **anticuerpo** y la sustancia que induce la producción de anticuerpos se llama **antígeno**. En resumen, la respuesta inmunitaria innata es esencial para eliminar la mayoría de los patógenos. Si este mecanismo falla, sin embargo, se inicia una respuesta inmunitaria adaptativa que confronta de forma específica al patógeno y establece inmunidad. Por lo tanto, los dos sistemas interactúan y colaboran para lograr el objetivo final, que es destruir al patógeno.

INMUNIDAD INNATA

La inmunidad innata es una respuesta inmediata contra un patógeno, la cual no confiere inmunidad protectora por mucho tiempo. Es un sistema de defensa no específico e incluye barreras contra agentes infecciosos como la piel (epitelio) y las membranas mucosas. También incluye muchos componentes inmunitarios que son importantes en la respuesta inmunitaria adaptativa, como fagocitos, linfocitos citolíticos naturales (NK, *natural killers*), receptores de tipo Toll (TLR, *Toll-like receptors*), citosinas y factores del sistema del complemento.

Barreras de la inmunidad innata

Pocos microorganismos logran penetrar las superficies corporales. Éstas tienen **capas de células epiteliales** que actúan como barreras, las cuales se encuentran en la **piel**, las vías respiratorias, el sistema gastrointestinal (GI) y el aparato genitourinario. Las células de los epitelios tienen uniones estrechas y producen un número de péptidos antimicrobianos potentes que ayudan a proporcionar protección contra patógenos invasores. La lisozima es un ejemplo de un péptido antimicrobiano que disuelve algunas paredes celulares bacterianas. Otras

apter 08_Carroll_4R.indd 127 14/04/16

moléculas con propiedades antimicrobianas importantes para la defensa innata son las **defensinas**. Éstas son péptidos con carga positiva localizados principalmente en el GI y las vías respiratorias inferiores que forman perforaciones en las paredes celulares bacterianas y por lo tanto rompen las membranas plasmáticas. Los neutrófilos ubicados en el intestino delgado contienen gránulos azurófilos con α defensinas, que se liberan después de la activación de los TLR. Por otra parte, las células epiteliales de las vías respiratorias secretan β defensina. Las α defensinas también han mostrado actividad antiviral, por ejemplo al inhibir al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) uniéndose al receptor CXCR4 (C-X-C receptor de quimiocina tipo 4); de esta manera interfieren con la entrada del virus a las células.

El epitelio mucoso de las vías respiratorias ofrece otra forma de protección contra las infecciones. El **moco**, una mezcla compleja de mucinas, proteínas, proteasas e inhibidores de proteasas, es un componente muy importante del epitelio de las mucosas. Algunas bacterias se unen a las células epiteliales mediante proteínas adhesivas que portan en su superficie (p. ej., las pilosidades de los gonococos y de *Escherichia coli*). Sin embargo, la presencia de moco limita la adhesión de las bacterias a estas superficies celulares. Además, una vez atrapados en el moco, los microorganismos se eliminan por el movimiento ciliar. Por lo tanto, la superficie mucosa y las células epiteliales ciliadas tienden a inhibir la adhesión de microbios y limitan el tiempo de exposición. De forma similar, el GI tiene mecanismos para inhibir la colonización de bacterias. La acidez del estómago y las enzimas proteolíticas del intestino delgado hacen que este ambiente sea hostil para muchas bacterias.

Una barrera adicional para la invasión de microbios es el efecto del ambiente químico. Por ejemplo, el pH ácido del sudor, las secreciones sebáceas y el estómago tiene propiedades antimicrobianas. Asimismo, la producción de ácidos grasos en la piel también tiende a eliminar organismos patógenos.

Mecanismos de la inmunidad innata

Aunque la inmunidad innata no genera protección contra antígenos específicos y no se sustenta en el reconocimiento de patógenos específicos, es una poderosa línea de defensa. Además de las barreras de protección fisiológicas, el sistema innato dispone de células y proteínas (como las citosinas y el complemento). Los leucocitos fagocíticos, como los leucocitos neutrofílicos polimorfonucleares (neutrófilos), los macrófagos y los linfocitos NK son los componentes celulares primarios para combatir microbios. La interacción entre microbios invasores y estas células (entre otras del cuerpo) activa al complemento y numerosas citosinas. Muchas de éstas son moléculas proinflamatorias, como la interleucina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral α (TNF-α, *tumor necrosis factor*-α), interleucina 6 (IL-6) y los interferones. Su liberación es inducida por interacciones con los TLR. Con estas herramientas especiales, el hospedador inicia su defensa contra patógenos invasores.

A. Sensores microbianos

Cuando un patógeno entra a la piel se enfrenta a los macrófagos y a otras células fagocíticas que poseen "sensores microbianos". Hay tres grupos principales de estas moléculas: 1) los **TLR**; 2) los **receptores similares al NOD** (NLR, *NOD-like receptors*) y 3) las **helicasas tipo RIG-1 y MDA-5**. Los TLR son los sensores microbianos mejor estudiados. Son una familia de receptores de reconocimiento de patrones (PRR, *pattern recognition receptors*), conservados en términos evolutivos, que reconocen modelos moleculares asociados a microorganismos patógenos (PAMP, *pathogen-associated molecular patterns*). Son la primera línea de defensa contra una variedad de patógenos y son fundamentales para iniciar la respuesta inmunitaria innata. Los TLR son proteínas transmembrana tipo 1 con un dominio extracelular, una sola hélice α transmembrana y un dominio citoplasmático. Cuando los TLR reconocen estos patrones microbianos específicos, se activa una cascada de transducción de señales que genera una respuesta inflamatoria rápida y sólida que se caracteriza por la activación de células y la liberación de citosinas.

Hasta ahora se han identificado 10 TLR humanos; cada uno de ellos parece estar involucrado en el reconocimiento de un grupo único de patrones microbianos. Por ejemplo, el TLR2 identifica a varios ligandos (p. ej., el ácido lipoteicoico) expresados por bacterias grampositivas, mientras que el TLR3 se une al ácido ribonucleico bicatenario (dsRNA, *double-stranded RNA*) en la replicación vírica. Los TLR 1 y 6 reconocen a muchos péptidos diacilados (p. ej., en el micoplasma), mientras que el TLR4 es específico para lipopolisacáridos (LPS) gramnegativos. El TLR5, por otra parte, reconoce a la flagelina bacteriana; los TLR 7 y 8 interactúan con RNA de cadena individual (ssRNA, *single-stranded RNA*) en la replicación de los virus. El TLR9 se une al DNA de bacterias y virus. En la actualidad se desconoce el ligando del TLR10.

Los NLR, otra gran familia de receptores innatos, se localizan en el citoplasma y sirven como sensores intracelulares para productos microbianos. Activan la vía del factor nuclear potenciador de la cadena ligera κ de los linfocitos B activados (NF-κB, *nuclear factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells*) y generan respuestas inflamatorias similares a las inducidas por los TLR. El tercer grupo de sensores microbianos es el de las helicasas tipo RIG-1 y la proteína 5 relacionada con la diferenciación del melanoma (MDA-5, *melanoma differentiation-associated protein 5*). Éstos son sensores citoplasmáticos de ssRNA vírico. La unión del ssRNA con estos sensores activa la producción de los interferones (IFN, *interferon*) tipo 1. Éstos son inhibidores muy efectivos de la replicación vírica.

B. Componentes celulares y fagocitosis

Para que la inmunidad innata sea efectiva se requieren respuestas rápidas, no específicas y de corta duración. Estas características son distintivas del proceso de la fagocitosis. Durante una infección se incrementa el número de células fagocíticas circulantes, que pueden participar en procesos de **quimiotaxia**, **migración**, **ingestión** y **eliminación de microbios**. Cualquier antígeno (microorganismo) que entra al cuerpo a través de los vasos linfáticos, los pulmones o el torrente sanguíneo es ingerido por fagocitos.

Por lo tanto, los fagocitos presentes en la sangre, el tejido linfático, el hígado, el bazo, los pulmones y otros tejidos, son las células responsables de la captación y la remoción de antígenos

externos. Entre los fagocitos se incluyen: 1) los **monocitos** y los **macrófagos**; 2) los **granulocitos**, **incluidos los neutrófilos**, **eosinófilos** y **basófilos** y 3) las **células dendríticas**. Los **monocitos** son leucocitos pequeños que circulan en la sangre y que maduran para transformarse en **macrófagos**, que se encuentran en casi todos los tejidos. Por ejemplo, en el hígado se conocen como células de Kupffer y en el tejido nervioso se les llama microgliocitos. Los macrófagos son células esenciales que fagocitan y eliminan patógenos, procesan y presentan antígenos y regulan la reactividad inmunitaria al producir una variedad de moléculas (p. ej., citosinas).

Los **granulocitos** son leucocitos que contienen gránulos que se tiñen densamente. Los **neutrófilos** tienen una vida corta y son importantes células fagocíticas que destruyen patógenos dentro de vesículas intracelulares. Los **eosinófilos** y los **basófilos** son menos abundantes y almacenan gránulos que contienen enzimas y proteínas tóxicas que se liberan cuando las células se activan. Las **células dendríticas** también son fagocíticas y tienen la capacidad de degradar patógenos; sin embargo, su función principal es activar a los linfocitos T en la respuesta inmunitaria adaptativa, puesto que actúan como células presentadoras de antígenos (APC, *antigen presenting cells*) y producen citosinas reguladoras (p. ej., IFN-α).

La **fagocitosis** es un proceso de múltiples pasos en el que un fagocito, como un neutrófilo, reconoce a un patógeno, lo ingiere y después lo destruye. Una vez que un patógeno entra a la sangre o a algún tejido, la célula fagocítica se desplaza a ese sitio. Esta migración depende de la liberación de señales de factor quimiotáctico producidos por las células del hospedador o por el patógeno. La IL-8 es una potente quimiotaxina que atrae neutrófilos. En fecha reciente se demostró que la IL-17 también es una quimiotaxina efectiva. En la etapa inicial del proceso de migración, los neutrófilos se adhieren a la superficie de las células endoteliales a través de moléculas de adhesión como la selectina P. Los neutrófilos, que siguen la atracción de las quimiocinas, salen de la circulación sanguínea, atraviesan el endotelio y llegan hasta el sitio de infección en el interior de los tejidos. Ahí reconocen y fagocitan los patógenos en una vesícula endocítica llamada *fagosoma*. Una vez adentro del neutrófilo, el patógeno es eliminado.

Los fagocitos utilizan diversos mecanismos antimicrobianos para eliminar patógenos. Por ejemplo: 1) la acidificación se produce dentro del fagosoma, cuyo pH interior es de 3.5 a 4; este nivel de acidez es bacteriostático o bactericida; 2) también se generan productos tóxicos derivados del oxígeno, como el superóxido O_2^-, el peróxido de hidrógeno H_2O_2 y el oxígeno molecular O_2; 3) asimismo se producen óxidos de nitrógeno tóxicos y óxido nítrico (NO) y 4) las células fagocíticas fabrican péptidos antimicrobianos que participan en la eliminación de patógenos. En los macrófagos hay catelicidina y péptidos derivados de la elastasa de los macrófagos. Los neutrófilos, por otra parte, producen una gran cantidad de α defensina, β defensina, catelicidina y lactoferricina. Los fagocitos utilizan todos estos mecanismos para destruir patógenos. Los neutrófilos experimentan apoptosis después de completar su objetivo.

Como se mencionó antes, la fagocitosis puede ocurrir sin anticuerpos. Sin embargo, es más eficiente cuando éstos están disponibles para recubrir la superficie de las bacterias y facilitar su ingestión. Este proceso se llama opsonización y se produce por medio de los siguientes mecanismos: 1) los anticuerpos por sí mismos pueden actuar como opsoninas; 2) los anticuerpos y los antígenos activan el sistema del complemento (a través de la vía clásica) para generar opsonina y 3) la opsonina se produce cuando se activa la vía alternativa y se genera C3. Los macrófagos tienen receptores de membrana para la porción Fc de los anticuerpos y para el componente C3 del complemento. Estos dos receptores facilitan la fagocitosis de patógenos recubiertos con anticuerpos.

C. Linfocitos citolíticos naturales

Los linfocitos NK son grandes células granulares relacionadas morfológicamente con los linfocitos T que representan el 10 a 15% de los leucocitos sanguíneos. Los linfocitos NK contribuyen con la inmunidad innata proporcionando protección contra virus y otros patógenos intracelulares. Estas células tienen la capacidad de reconocer y matar células cancerígenas o infectadas por virus. Expresan dos tipos de receptores de superficie: 1) los receptores de linfocitos NK similares a la lectina que se unen a proteínas pero no a carbohidratos y 2) los receptores similares a inmunoglobulina citolítica (KIR, *killer immunoglobulin-like*), que reconocen a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*) tipo I. Estos receptores de los linfocitos NK tienen propiedades tanto inhibidoras como activadoras. Estas células contienen grandes cantidades de perforinas y granzimas, sustancias que median sus acciones citolíticas.

Además, cuando inicia la producción de anticuerpos en la respuesta inmunitaria adaptativa, los linfocitos NK tienen una función crítica en la **citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos** (**ADCC**, *antibody-dependent celular cytotoxicity*). En este proceso, un anticuerpo específico se une a la superficie celular efectora. Los linfocitos NK tienen receptores de la región Fc que se unen al anticuerpo adherido a su diana y matan a la célula. Esta propiedad le da a las células NK otra oportunidad para inhibir la replicación de virus y bacterias intracelulares.

Los linfocitos NK y el sistema de IFN son partes integrales de la inmunidad innata que se comunican entre sí. Los linfocitos NK son una de las dos fuentes primarias de IFN-γ, un antivírico potente y una citosina inmunorreguladora. Además, la actividad lítica de estas células es potenciada por los IFN tipo 1 (IFN-α e IFN-β). De hecho, la producción de estas dos citosinas es inducida por el virus invasor.

D. Sistema del complemento

El sistema del complemento es otro componente clave de la inmunidad innata. Este sistema está formado por 30 proteínas que se encuentran en el suero o en la membrana de células específicas que interactúan en una cascada de reacciones secuenciales. Cuando se activa el complemento, éste inicia una serie de reacciones bioquímicas que culminan en lisis celular o en la destrucción de patógenos. Como se describirá más adelante en este capítulo, hay tres vías del complemento: la clásica, la alternativa y la de la lectina. Aunque cada una de éstas tiene un mecanismo de iniciación diferente, todas provocan la lisis del organismo invasor. Las vías alternativa y de la lectina sirven como primeras líneas de defensa principales y proporcionan

protección inmediata contra microorganismos. La vía alternativa del complemento se activa por superficies microbianas y puede proceder en ausencia de anticuerpos. De forma similar, la vía de la lectina (que utiliza lectina fijadora de manosa [MBL, *mannose-binding lectin*]) evita el uso de anticuerpos y para iniciar eventos. Las proteínas del complemento logran su misión defensiva de muchas formas, incluyendo la opsonización, la lisis de bacterias y la amplificación de respuestas inflamatorias a través de anafilatoxinas, C5 y C3a. El complemento se describe con mayor detalle más adelante.

Algunos microbios han desarrollado mecanismos para sabotear al sistema del complemento y evadir las respuestas inmunitarias. Por ejemplo, los poxvirus, como el virus de la variolovacuna y el virus de la viruela, producen una proteína soluble que inhiben a este sistema.

E. Mediadores de la inflamación e interferones

En la sección sobre mecanismos de la inmunidad innata se mencionó que varias células y los componentes del complemento de la inmunidad innata orquestan sus efectos a través de la producción de mediadores solubles. Éstos incluyen las citosinas, las prostaglandinas y los leucotrienos. En esta sección se resume la función de estos mediadores en los procesos inflamatorios. En la sección de la respuesta inmunitaria adaptativa se describen las citosinas de forma detallada.

La lesión de los tejidos inicia una respuesta inflamatoria dominada en primera instancia por mediadores solubles, conocidos como **citosinas**. Éstas son moléculas inflamatorias o antiinflamatorias, quimiocinas, moléculas de adhesión y factores de crecimiento. Durante la respuesta inmunitaria innata, leucocitos, como los macrófagos, liberan una variedad de citosinas, incluidas IL-1, TNF-α e IL-6. Otros mediadores que liberan macrófagos activados y otras células son las prostaglandinas y los leucotrienos. Estos mediadores inflamatorios regulan cambios en vasos sanguíneos locales caracterizados por dilatación de arteriolas y capilares. Durante la dilatación escapa plasma que se acumula en el área de la lesión. Después se forma fibrina que ocluye los conductos linfáticos y limita así la diseminación del organismo.

Un segundo efecto de estos mediadores es inducir cambios en la expresión de moléculas de adhesión expresadas en la superficie de células endoteliales y leucocitos. Estas proteínas (p. ej., selectinas e integrinas) provocan que los leucocitos se adhieran a las células endoteliales y en consecuencia promuevan su movimiento a través de la pared vascular. Por lo tanto, las células se pegan a las paredes de los capilares y después migran hacia fuera de ellos (extravasación) dirigiéndose hacia el irritante. Esta migración (**quimiotaxia**) la estimulan proteínas del exudado inflamatorio, incluyendo algunas quimiocinas. Una variedad de tipos celulares, incluidos los macrófagos y las células endoteliales, pueden producir quimiocinas. Una vez que los fagocitos migran al sitio de la infección inician la fagocitosis de microorganismos.

La fiebre es otra manifestación sistémica común de respuestas inflamatorias y es un síntoma cardinal de las enfermedades infecciosas. El principal regulador de la temperatura corporal es el centro termorregulador que se encuentra en el hipotálamo. Entre las sustancias capaces de inducir fiebre (pirógenos) se encuentran las endotoxinas de bacterias gramnegativas y algunas citosinas (p. ej., IL-1, IL-6, TNF-α y los interferones) liberadas por una variedad de células.

Los **interferones** (**IFN**) son citosinas importantes que tienen una función esencial en la defensa contra infecciones víricas y otros organismos intracelulares, como *Toxoplasma gondii*. Aunque los IFN se identificaron por primera vez en 1957 como proteínas antivirales, ahora se reconocen como proteínas reguladoras de las respuestas inmunitarias fundamentales, capaces de alterar diversos procesos celulares como el crecimiento, la diferenciación, la transcripción génica y traducción. La familia de IFN está formada por tres grupos. Los IFN tipo I comprenden numerosos genes y en primera instancia incluyen a los interferones α y β. El IFN tipo II es un solo gen que produce IFN-γ. El IFN-λ es un tercer grupo de citosinas similares a los IFN, que se descubrieron en fecha reciente. Una infección vírica activa por sí misma la producción de interferones de tipo I. Después de entrar a una célula, un virus inicia la replicación y su ácido nucleico interactúa con sensores microbianos específicos (TLR3, TLR7, TLR9, RIG-1 y MDA-5). Esta interacción inicia la producción de IFN por parte de la célula infectada. En contraste, el IFN-γ se produce por linfocitos NK activados en respuestas inmunitarias innatas y por linfocitos T específicamente sensibilizados en respuestas inmunitarias adaptativas. Además, las citosinas IL-2 e IL-12 son capaces de activar la producción de IFN-γ por parte de los linfocitos T.

El sistema de IFN consiste en una serie de eventos que protege a las células de la replicación vírica. Ya que fue producido por la célula infectada o por los linfocitos NK o T activados, el IFN se une a su receptor celular específico. Esta interacción activa las vías de señalización JAK-STAT, lo cual activa los genes que inician la producción de proteínas específicas que inhiben la replicación de los virus. Todos los IFN comparten actividades biológicas que se superponen, como acciones antivirales, efectos contra la proliferación y actividades inmunorreguladoras. Sin embargo, también tienen funciones únicas que no coinciden. Por ejemplo, el IFN-β se utiliza de forma exitosa para tratar pacientes con esclerosis múltiple. Por otra parte, se ha demostrado que el IFN-γ exacerba esta enfermedad. Estas potentes acciones de los IFN y los avances en biotecnología son los factores subyacentes que han identificado la relevancia clínica de dichas moléculas. De hecho, la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos aprobó muchos de los IFN para el tratamiento de infecciones, procesos cancerígenos, trastornos autoinmunes e inmunodeficiencias.

INMUNIDAD ADAPTATIVA

A diferencia de la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa es muy específica, tiene memoria y puede responder de forma rápida y contundente a una segunda exposición de antígenos. La respuesta inmunitaria adaptativa involucra respuestas inmunitarias mediadas por anticuerpos y conducidas por células. A continuación se resumen los componentes de la respuesta inmunitaria adaptativa y sus interacciones. Los detalles se presentan a lo largo de este capítulo.

Bases celulares de la respuesta inmunitaria adaptativa

Las células linfoides tienen una función significativa en la respuesta inmunitaria adaptativa. Durante el desarrollo embrionario, los precursores de las células sanguíneas (células madre hematopoyéticas) se originan en el hígado fetal y otros tejidos; en la vida posnatal residen en la médula ósea. Las células madre pueden diferenciarse en células de la serie mieloide o de la linfoide. Las células madre linfoides se transforman en dos poblaciones principales de linfocitos, los B y los T.

Las células madre destinadas a transformarse en linfocitos B se desarrollan en la médula ósea. Ellas reestructuran sus genes de inmunoglobulinas y expresan un único receptor de antígenos sobre su superficie. Después de este paso, los linfocitos B migran a un órgano linfático secundario (p. ej., el bazo) y pueden activarse por un encuentro con un antígeno o transformarse en plasmocitos secretores de anticuerpos.

Los linfocitos T se producen en la médula ósea pero se transportan al timo para madurar. Ahí, experimentan recombinación VDJ (*variable diverse joining*) del DNA de la cadena β del receptor de linfocito T (TCR, *T cell receptor*) y del DNA de la cadena α del TCR. Una vez que ha ocurrido la reestructuración del TCR y han terminado las selecciones positiva y negativa, estas células forman subclases de linfocitos T con funciones específicas (p. ej., linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺). Éstos son los responsables de la inmunidad mediada por células.

La figura 8-1 presenta un resumen de los procesos inmunitarios específicos que se revisan en esta sección. Los dos tipos de respuesta inmunitaria, mediada por células y por anticuerpos, se desarrollan de forma concurrente. En la respuesta inmunitaria **mediada por anticuerpos**, los linfocitos T CD4⁺ reconocen a los antígenos de los patógenos, unidos a moléculas del MHC clase II ubicadas en la superficie de una célula presentadora de antígenos (APC, *antigen-presenting cell*) (p. ej., un macrófago o un linfocito B). Esta interacción induce la producción de citosinas que estimulan a los linfocitos B para que expresen anticuerpos con especificidad por antígenos. Los linfocitos B experimentan proliferación clonal y se transforman en plasmocitos. En la respuesta inmunitaria **mediada por células**, el complejo antígeno-MHC clase II se reconoce por linfocitos T CD4⁺, mientras que el complejo antígeno-MHC clase I es identificado por linfocitos T CD8⁺. Ambos subgrupos de linfocitos T producen citosinas, se activan y se multiplican por proliferación clonal. Los linfocitos T CD4⁺ recién generados estimulan a los linfocitos B para que produzcan anticuerpos y

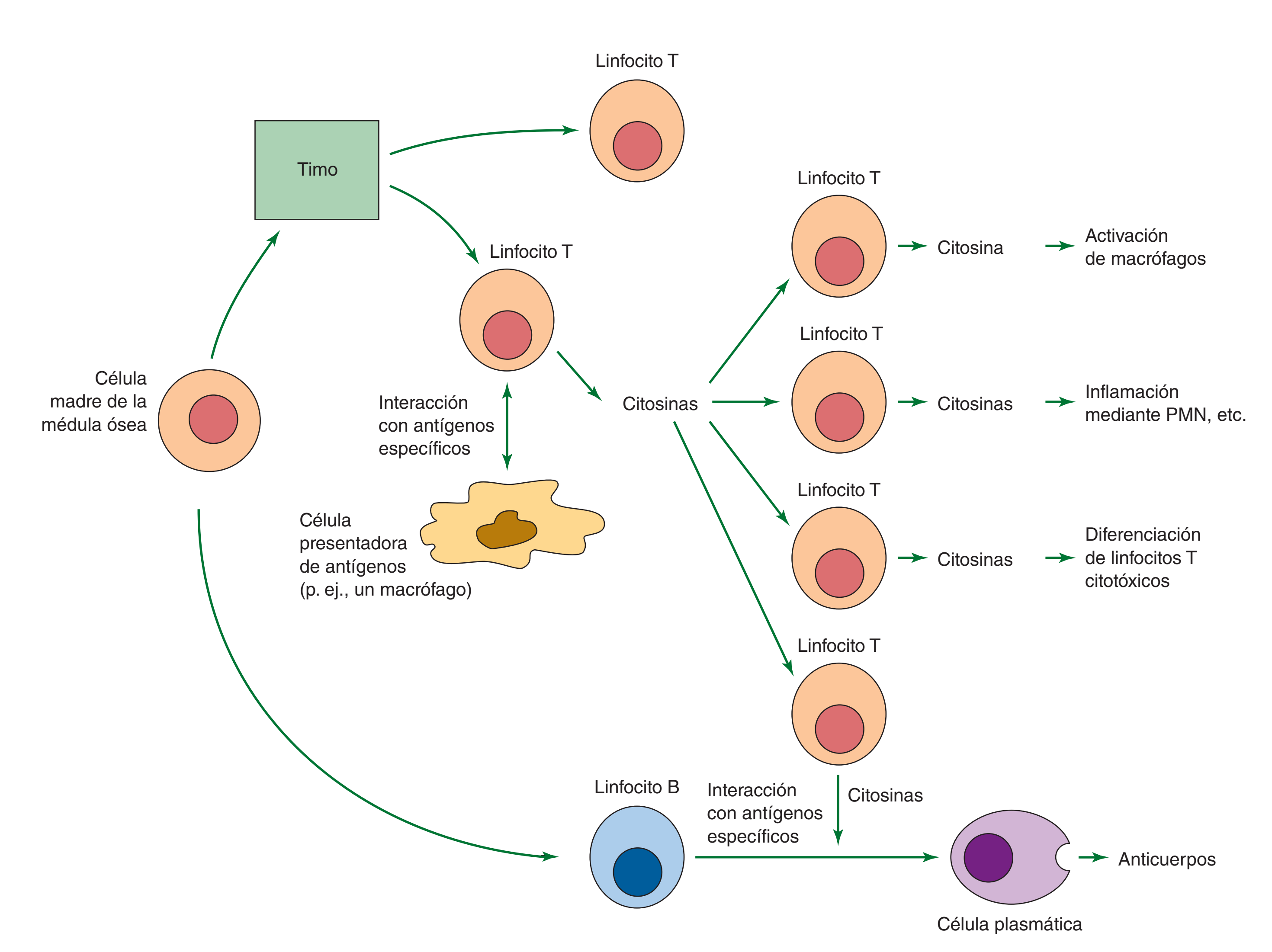


FIGURA 8-1 Esquema de las interacciones celulares que ocurren en la respuesta inmunitaria.

promuevan eventos de hipersensibilidad tardía, mientras que los linfocitos T CD8+ destruyen células de injertos, cancerígenas o infectadas por virus.

Antígenos

Un antígeno es una sustancia que reacciona con un anticuerpo. Los inmunógenos inducen una respuesta inmunitaria y la mayoría de los antígenos también son inmunógenos. Hay muchas características que determinan en gran medida la inmunogenicidad. Entre ellas se encuentran las siguientes: **1) reconocimiento de agentes externos:** en general, las moléculas reconocidas como "propias" no son inmunógenas. Para que lo sean, deben ser reconocidas como externas ("ajenas"); **2) tamaño:** los inmunógenos más potentes por lo general son grandes proteínas complejas; moléculas con un peso molecular (MW, *molecular weight*) menor a 10 000 Da son poco inmunógenas, y, como se esperaría, moléculas muy pequeñas no lo son. Algunas moléculas pequeñas, llamadas **haptenos**, se vuelven inmunógenas sólo cuando se unen a una proteína portadora. Un ejemplo son los lípidos y los aminoácidos que son haptenos no inmunógenos. Requieren unirse a una proteína o una molécula de polisacárido portadora para ser inmunógenas o generar una respuesta inmunitaria; **3) complejidad estructural y química:** la complejidad química es otra característica fundamental de la inmunogenicidad. Por ejemplo, los homopolímeros de aminoácidos son menos inmunogénicos que los heteropolímeros que contienen dos o más aminoácidos diferentes; **4) constitución genética del hospedador:** debido a diferencias en los alelos del MHC, dos razas de la misma especie animal pueden responder de forma distinta al mismo antígeno y **5) dosis, vía y momento de la administración de antígenos:** otros factores que afectan la inmunogenicidad incluyen la concentración, la vía y el momento de la administración de antígenos.

Estos conceptos son importantes para diseñar vacunas para potenciar la inmunogenicidad. Sin embargo, para elaborar fármacos proteínicos se consideran métodos para inhibir las respuestas inmunitarias. Esto puede observarse en un individuo capaz de responder a cierto medicamento y producir anticuerpos contra él. Estos anticuerpos contra fármacos pueden inhibir la eficiencia de los fármacos.

Por último, cabe mencionar que es posible potenciar la inmunogenicidad de una sustancia al combinarla con un **adyuvante**. Éste es una sustancia que estimula las respuestas inmunitarias al facilitar la actividad fagocítica de las APC.

Moléculas para el reconocimiento de antígenos

Durante una respuesta inmunitaria, es esencial un sistema de reconocimiento capaz de distinguir lo "propio" de lo "ajeno" para una inmunidad eficaz. Esta sección del capítulo se concentra en las moléculas utilizadas para reconocer antígenos externos. Primero se revisan las moléculas del MHC y la presentación de antígenos, después se resumen la estructura y la función de los anticuerpos y por último se presenta una sinopsis de los receptores específicos para el reconocimiento de antígenos (p. ej., el receptor de linfocito B [BCR, *B-cell receptor*] y el TCR).

Complejo mayor de histocompatibilidad

Desde el punto de vista histórico, el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*) se descubrió primero como un *locus* genético que codificaba a un grupo de antígenos responsables del rechazo de injertos tumorales. Ahora se sabe que los productos de los genes de esta región son los principales antígenos reconocidos en el rechazo de trasplantes. También está claro que las moléculas del MHC se unen a antígenos peptídicos y los presentan a los linfocitos T. Por lo tanto, estas moléculas son responsables del reconocimiento de antígenos por parte de dichas células y tienen una función importante en el control de una variedad de funciones inmunitarias básicas. También debe notarse que el TCR no es un anticuerpo. Éstos se unen a los antígenos de forma directa, mientras que el TCR sólo reconoce antígenos peptídicos presentados por el MHC de una APC. El TCR es específico para antígenos, pero éstos deben ser presentados por moléculas de MHC propias. El TCR también es específico para la molécula de MHC. Si un antígeno es presentado por otra forma alélica de MHC *in vitro*, el TCR no reconoce al complejo. A esto se le conoce como *restricción del MHC*.

El MHC es un grupo de genes bien estudiados que están vinculados de forma estrecha en el cromosoma 6 en seres humanos. El MHC humano se llama complejo antígeno leucocitario humano (HLA, *human leukocyte antigen*). Entre los numerosos genes importantes que se encuentran en el MHC humano están los que codifican a las proteínas de los MHC de las clases I, II y III. Como se resume en el cuadro 8-1, las proteínas del MHC clase I son codificadas por los genes HLA-A, -B y -C. Estas proteínas están formadas por dos cadenas: 1) una glucoproteína transmembrana con peso molecular de 45 000 Da, vinculada de forma no covalente a 2) un polipéptido no codificado por el MHC (con un peso molecular de 12 000 Da) llamado microglobulina β_2. Las moléculas del MHC clase I se expresan en casi todas las células nucleadas del cuerpo. Algunas excepciones importantes son ciertas células del cerebro y la retina.

Las proteínas de clase II están en la región HLA-D. Las proteínas del MHC clase II se agrupan en tres familias: las mo-

CUADRO 8-1 Características importantes de los productos génicos de los MHC clases I y II

	Clase I	Clase II
Loci genético (lista parcial)	HLA-A, -B y -C	HLA-DP, -DQ y -DR
Composición de polipéptidos	MW de 45 000 Da + β_2M (12 000 Da)	Cadena α (33 000 Da), Cadena β (29 000 Da), Cadena Ii (30 000 Da)
Distribución celular	En la mayoría de las células somáticas nucleadas, excepto células del cerebro y la retina	En células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas, linfocitos B, etc.) y células activadas por el IFN-γ
Presenta antígenos peptídicos a	Linfocitos T CD8+	Linfocitos T CD4+
Tamaño del péptido unido	8 a 10 residuos	10 a 30 residuos o más

léculas codificadas HLA-DP, -DQ y -DR (cuadro 8-1). Este *locus* controla la reactividad inmunitaria y distintas formas alélicas de estos genes confieren diferencias en la capacidad de un individuo para montar una respuesta inmunitaria.

Las moléculas codificadas en el *locus* HLA-D son heterodímeros de la superficie celular que contienen dos subunidades llamadas α y β, que tienen pesos moleculares cercanos a 33 000 y 29 000 Da, en dicho orden. A diferencia de las proteínas de clase I, las proteínas del MHC clase II tienen una distribución hística bastante restringida y se expresan de forma constitutiva en los macrófagos, las células dendríticas y los linfocitos B. Sin embargo, la expresión de estas moléculas en otros tipos de células (p. ej., células endoteliales o células epiteliales) requiere inducción por el IFN-γ.

El *locus* del MHC clase I también contiene genes que codifican proteínas necesarias para el tratamiento de antígenos (p. ej., transportadores asociados al procesamiento de antígenos [TAP, *transporters associated with antigen processing*]) (figura 8-2). El *locus* del MHC clase III codifica proteínas del complemento y numerosas citosinas.

Los genes de los MHC de las clases I y II exhiben una variabilidad extraordinaria. Estudios de mapeo genético demostraron que hay una alto nivel de polimorfismo en el MHC y diferentes individuos por lo general expresan distintas variantes alélicas de dicho complejo (restricción del MHC). Se han definido cerca de 300 variantes alélicas en algunos *loci* del HLA. En la actualidad, los genes del MHC son los más polimorfos conocidos. Cada individuo hereda un grupo restringido de alelos de alguno de sus padres. Un grupo de genes del MHC vinculados de manera estrecha se heredan como un bloque o **haplotipo**.

En 1987 se reveló la estructura tridimensional de las proteínas de los MHC de las clases I y II utilizando cristalografía por rayos X. Este elegante trabajo proporcionó información fundamental sobre la forma en la que las proteínas del MHC funcionan y activan las respuestas inmunitarias. Análisis

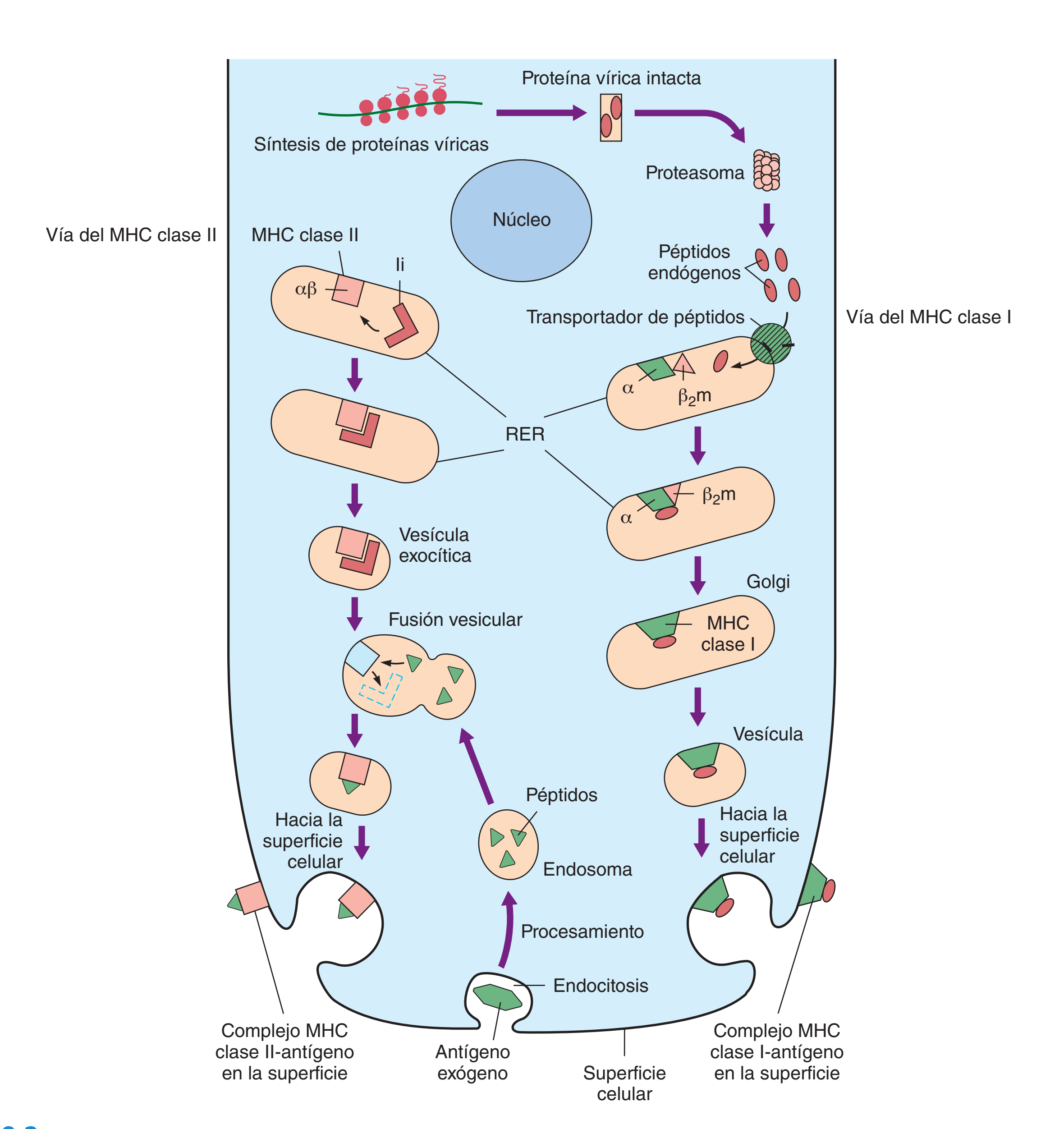


FIGURA 8-2 Vías de procesamiento de antígenos (MHC clases I y II). (Modificada y reproducida con autorización de Parslow T. G. *et al.*, [editores]: *Medical immunology*, 10a. edición. McGraw-Hill, 2001. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

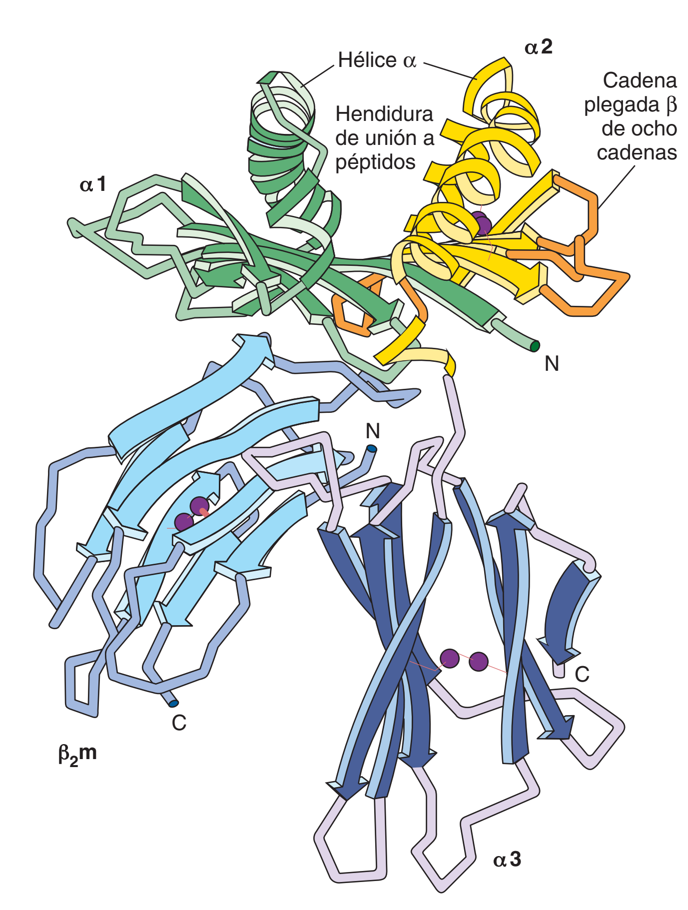


FIGURA 8-3 Diagrama de una molécula de HLA clase I. (Reproducida con autorización de Macmillan Pubishers Ltd: Bjorkman P.J., *et al.:* Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987;329:506. Derechos de autor © 1987.)

con rayos X (figura 8-3) demuestran que la estructura completa parece una **hendidura** cuyas paredes están formadas por las hélices α y el piso está moldeado por láminas plegadas β. El análisis con rayos X muestra que la hendidura está ocupada por un péptido. En esencia, el TCR reconoce al antígeno peptídico unido a una hendidura proporcionada por el MHC. La figura 8-4A ilustra esta interacción.

Las proteínas del MHC tienen una especificidad amplia por antígenos peptídicos. De hecho, muchos péptidos diferentes pueden ser presentados por un alelo del MHC distinto. Un concepto clave de este modelo implica que el polimorfismo del MHC permite la unión de muchos péptidos específicos y diferentes en la hendidura. Esto significa que alelos distintos pueden unirse a diferentes antígenos peptídicos y presentarlos.

Presentación y procesamiento de antígenos

El procesamiento y la presentación de antígenos son distintivos de la respuesta inmunitaria adaptativa. Este complejo mecanismo comienza con antígenos que se vinculan con moléculas del MHC propias para ser presentados a linfocitos T con receptores apropiados. Proteínas provenientes de antígenos exógenos, como bacterias, son internalizados por las APC (células dendríticas o macrófagos) y experimentan desnaturalización o proteólisis parcial en las vesículas endocíticas. Mientras se encuentran en el interior del endosoma, estos fragmentos peptídicos se fusionan con vesículas exocíticas que contienen moléculas del MHC clase II. Como se observa en la figura 8-2, en este paso se expone el fragmento peptídico apropiado que eventualmente se expresará en la superficie de la APC (en forma del complejo "péptido-MHC").

Las moléculas del MHC clase II se sintetizan en el retículo endoplásmico (ER, *endoplasmic reticulum*) rugoso y después pasan a través del aparato de Golgi. La cadena invariable, un polipéptido que ayuda a transportar las moléculas del MHC, forma un complejo con el MHC clase II en un endosoma. Esta vesícula se llama compartimento del MHC clase II; esta cadena invariable es útil y bloquea la unión de péptidos celulares endógenos propios con el complejo MHC clase II. La cadena invariable es entonces removida por medios enzimáticos. A través de una serie de pasos, el MHC clase II se une al antígeno exógeno (fragmentos peptídicos) y lo transporta a la membrana celular para su presentación.

En la figura 8-2 se ilustra la interacción entre los antígenos endógenos de una célula infectada por un virus y una molécula de MHC clase I. En resumen, un complejo proteolítico, llamado **endosoma**, fragmenta proteínas citosólicas. Los péptidos

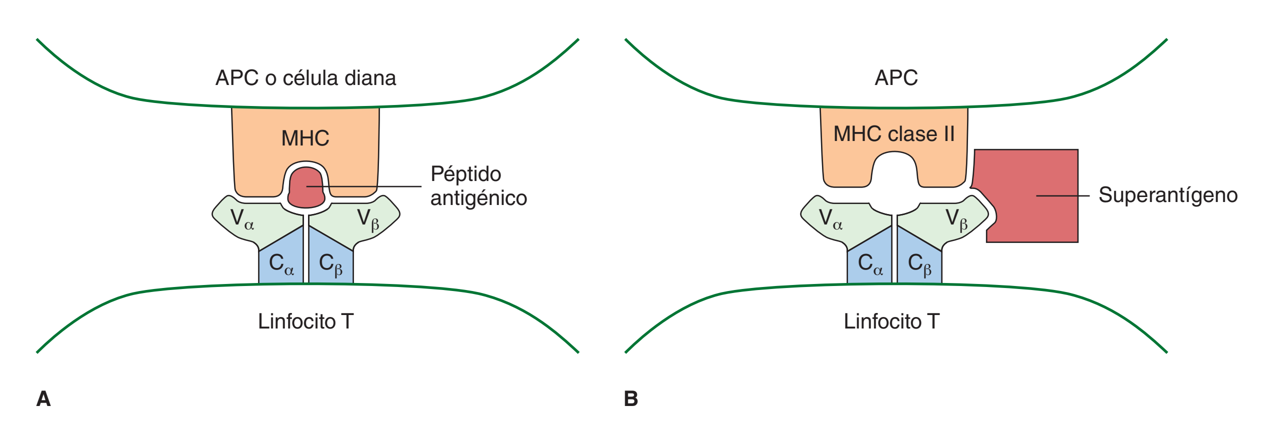


FIGURA 8-4 Unión de antígenos al MHC y al receptor de linfocito T (TCR). En el ***panel A*** se muestra un modelo de la interacción entre un péptido antigénico, el MHC y el TCR. Se muestran las regiones V_α y V_β del TCR, interactuando con las hélices α que forman la hendidura de unión a péptidos el MHC. En el ***panel B*** se muestra un modelo de la interacción entre un superantígeno, el MHC y el TCR. El superantígeno interactúa con la región V_β del TCR y con el MHC clase II fuera de la hendidura de unión a péptidos. (Adaptada con autorización de DG, *et al.* [editores]: *Medical Immunology*, 9a. ed. McGraw-Hill, 1997. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

citosólicos resultantes se unen a las moléculas nacientes del MHC clase I en el ER rugoso mediante sistemas transportadores de péptidos (TAP). Los genes de las proteínas TAP también están en el MHC. En la luz del ER, antígenos peptídicos de ocho a 10 residuos de longitud se asocian a proteínas nacientes del MHC clase I y cooperan con la microglobulina β_2 para crear un estable complejo MHC clase I-antígeno peptídico completamente plegado. Éste después se transporta a la superficie celular para ser exhibido y reconocido por los linfocitos T citotóxico $CD8^+$. La hendidura de unión de la molécula de clase I está más restringida que la de la molécula de clase II y, por lo tanto, ostenta péptidos más pequeños. Una vez que los linfocitos T citotóxicos reconocen los complejos MHC clase I-péptido antigénico, pueden matar a las células colonizadas por virus.

Muchos virus intentan derrotar a la respuesta inmunitaria al interferir con las vías de procesamiento de antígenos. Por ejemplo, una proteína Tat del VIH es capaz de inhibir la expresión de moléculas del MHC clase I. Una proteína del virus del herpes se une a los TAP, e impide el transporte de péptidos víricos al interior del ER, donde las moléculas del MHC clase I se sintetizan. Una consecuencia de este mecanismo inhibidor es que las células infectadas no son reconocidas por linfocitos citotóxicos.

Algunos antígenos bacterianos y otros víricos son capaces de activar grandes cantidades de linfocitos T a través de una vía especial. Estas proteínas se denominan **superantígenos**. Estas moléculas no necesitan ser procesadas y por lo tanto son capaces de unirse a moléculas del MHC fuera de la hendidura de unión a péptidos (figura 8-4B). En comparación con la respuesta estándar de los linfocitos T inducida por antígenos (donde un pequeño número de estas células es activado), los superantígenos pueden estimular a muchos más linfocitos T (cerca de 25% más). Algunas toxinas bacterianas son ejemplos clásicos de superantígenos, como las enterotoxinas estafilocócicas, la toxina del síndrome de choque tóxico y la exotoxina A pirogénica estreptocócica del grupo A. Una consecuencia de esta activación masiva de linfocitos T es la sobreproducción de citosinas, en particular de IFN-γ. Dicha molécula a su vez activa a los macrófagos para que éstos produzcan IL-1, IL-6 y TNF-α, los cuales pueden contribuir a la formación de una "tormenta de citosinas" que provoca muchos de los síntomas de estados de choque e insuficiencia de órganos múltiple.

Linfocitos B y anticuerpos

La respuesta humoral es mediada por anticuerpos. Cada individuo tiene un gran acervo de linfocitos B únicos (cerca de 10^{11}) que tienen un tiempo de vida de días o semanas y que se encuentran en la sangre, la linfa, la médula ósea, los ganglios linfáticos y los tejidos linfáticos relacionados con el intestino (p. ej., las amígdalas, las placas de Peyer y el apéndice).

A. Receptor de antígenos de los linfocitos B

Los linfocitos B exhiben un solo tipo de molécula clonal homogénea de inmunoglobulina (alrededor de 10^5 copias/célula) en su superficie. Estas inmunoglobulinas actúan como receptores (receptores de linfocitos B [BCR, *B-cell receptors*]) para un antígeno específico, de tal manera que cada linfocito B puede responder a sólo un antígeno o a un grupo de antígenos estrechamente relacionados. Todos los linfocitos B inmaduros portan inmunoglobulina M (IgM) en su superficie, y la mayoría también expresan IgD. Además, los linfocitos B tienen receptores en su superficie para la porción Fc de las inmunoglobulinas y para muchos elementos del complemento.

Un antígeno interactúa con el linfocito B con el que "encaja" mejor por virtud de su inmunoglobulina receptora en la superficie. Cuando un antígeno se une a su BCR, se estimula la división del linfocito B y se forma un clon (**selección clonal**). Estos linfocitos B seleccionados proliferan y se transforman en plasmocitos que secretan anticuerpos. Debido a que cada persona puede crear cerca de 10^{11} moléculas de anticuerpo diferentes, hay un sitio de unión a antígenos en un linfocito B que empalma con casi cualquier determinante antigénico.

El paso inicial para la formación de anticuerpos comienza con la unión de un antígeno a una inmunoglobulina de superficie (BCR). Después: 1) el BCR con su antígeno unido es internalizado por el linfocito B y el antígeno se degrada para generar péptidos que después regresan a la superficie celular unidos a moléculas del MHC clase II; 2) este complejo MHC clase II-péptido expuesto sobre el linfocito B es reconocido por linfocitos T cooperadores ($CD4^+$) específicos para antígenos. Estos linfocitos interactuaron antes con células dendríticas presentadoras de antígenos y se transformaron en respuesta al mismo patógeno. Esta interacción es posible debido a que el linfocito B y el linfocito T que se han encontrado con un antígeno, migran hacia las fronteras entre dichas células en tejidos linfáticos secundarios; 3) las quimiocinas, como CXCL13 y su receptor CXCR5, tienen una función importante en este proceso migratorio; 4) el ligando CD40 ubicado sobre el linfocito T se une al CD40 del linfocito B, lo cual induce que el primero produzca IL-4, IL-5 e IL-6, moléculas que promueven la proliferación de linfocitos B y 5) por último, los linfocitos B activados migran al interior de folículos y proliferan para formar centros germinativos; ahí ocurren hipermutación somática y cambio de la clase de inmunoglobulina. Los linfocitos B del centro germinativo que sobreviven este proceso se transforman en plasmocitos productores de anticuerpos o en linfocitos B de memoria. En el capítulo de referencia de Murphy *et al.*, (2012) se encuentran detalles adicionales sobre este tema.

Es importante mencionar que algunos antígenos bacterianos pueden estimular de forma directa esta producción de anticuerpos y no requieren la ayuda de linfocitos T para activar linfocitos B. Estos antígenos por lo general son polisacáridos bacterianos y LPS. Estos antígenos tímicos independientes de linfocitos T inducen respuestas de los linfocitos B (cambios de clase limitados) y no promueven la formación de linfocitos B de memoria. Al evitar la participación de los linfocitos T puede representarse una ventaja para el hospedador, debido a que puede generarse una respuesta inmunitaria expedita (por la producción de IgM) contra organismos selectos, como *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

B. Estructura y función de los anticuerpos

Los anticuerpos son inmunoglobulinas, las cuales reaccionan de forma específica con el antígeno que estimuló su producción. Representan cerca de 20% de las proteínas plasmáticas.

Los anticuerpos creados en respuesta a un solo antígeno complejo son heterogéneos, debido a que son creados por muchos clones diferentes de células. Cada clon expresa un anticuerpo capaz de reaccionar con un determinante antigénico distinto ubicado en el antígeno complejo. Estos anticuerpos se llaman **policlonales**. En contraste, las inmunoglobulinas que surgen de un solo grupo de clones de células, como un tumor de células plasmáticas (mieloma), son homogéneos y se les llama anticuerpos **monoclonales**. Éstos pueden producirse *in vitro* al fusionar una célula de mieloma con un linfocito B productor de anticuerpos.

Las inmunoglobulinas (Ig) comparten características estructurales comunes; es decir, todas están formadas por cadenas polipeptídicas tanto *ligeras* (L) como *pesadas* (H), según su peso molecular. Las cadenas L tienen un peso molecular aproximado de 25 000 Da, mientras que las H pesan cerca de 50 000 Da. Cada molécula de Ig está formada por dos **cadenas ligeras (L)** idénticas y dos **cadenas pesadas (H)** iguales, ligadas por puentes disulfuro. Las cadenas L pueden ser κ (kappa) o λ (lambda) y su clasificación se realiza con base en diferencias de aminoácidos en sus regiones constantes (figura 8-5). Los dos tipos de cadenas ligeras pueden encontrarse en todas las clases de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgD e IgE). Sin embargo, cualquier molécula de Ig contiene sólo un tipo de cadena L. La porción terminal amino de cada cadena L contiene parte del sitio de unión a antígenos. De forma similar, las **cadenas H** son distintas para cada uno de los cinco tipos de inmunoglobulina y se les denomina γ (gamma), μ (mu), α (alfa), δ (delta) y ε (épsilon) (cuadro 8-2). La porción terminal amino de cada cadena H forma parte del sitio de unión a antígenos; el otro extremo (carboxilo-terminal) forma el fragmento Fc (figura 8-5). La porción Fc de una Ig participa en diversas actividades biológicas, como la activación del complemento.

Por lo tanto, una molécula de anticuerpo individual está formada por cadenas H idénticas y cadenas L iguales. La molécula de anticuerpo más simple tiene forma de Y (figura 8-5) y consiste en cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas H y dos L. Las cuatro cadenas están unidas de forma covalente por puentes disulfuro.

Al estudiar la estructura de las Ig, se identificó de manera experimental que una molécula de anticuerpo, como la IgG, se puede dividir en dos fragmentos al utilizar la enzima proteolítica llamada papaína. Cuando esto ocurre, se rompen los enlaces peptídicos de la región de bisagra. La actividad de unión a antígenos está relacionada con uno de estos fragmentos, la porción Fab. El segundo fragmento es la porción Fc que está involucrada en la transferencia placentaria, la fijación del complemento, la adhesión de varias células y otras actividades biológicas.

Las cadenas H y las L de una molécula de Ig se subdividen en **regiones variables** y **regiones constantes**. Las regiones están formadas por segmentos repetitivos plegados de manera tridimensional, llamados *dominios*. Al utilizar cristalografía por rayos X de alta resolución se ha podido determinar la estructura de estos dominios. Una cadena L está compuesta por un dominio variable (V_L) y un dominio constante (C_L), mientras que la mayoría de las cadenas H tienen un dominio variable (V_H) y tres o más dominios constantes (C_H). Cada dominio está formado por cerca de 110 aminoácidos. Las regiones variables de una molécula de Ig están involucradas en la unión a los antígenos, mientras que las regiones constantes son responsables de las funciones biológicas que se describen más adelante.

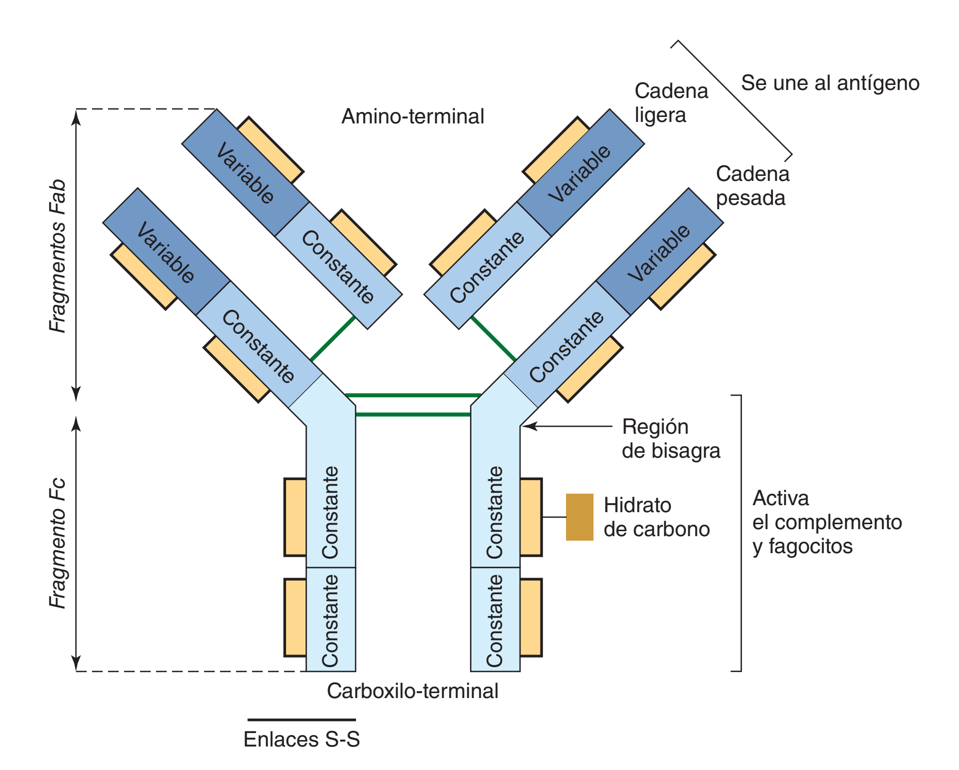


FIGURA 8-5 Representación esquemática de una molécula de IgG, que indica la localización de las regiones constante y variable en las cadenas pesada y ligera. El fragmento Fab sirve para la unión de los antígenos y la región Fc es el fragmento cristalizable.

CUADRO 8-2 **Propiedades de las inmunoglobulinas humanas**

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Símbolo de la cadena pesada	γ	α	μ	δ	ε
Valencia	2	4[a]	5	2	2
Peso molecular (daltones)	143 000 a 160 000	159 000 a 447 000[a]	900 000	177 000 a 185 000	188 000 a 200 000
Concentración sérica (mg/ml) (en adultos)	8 a 16	1.4 a 4.0	0.4 a 2.0	0.03	Cantidades traza
Semivida en el suero (días)	21[b]	7	7	2	2
Porcentaje de inmunoglobulinas en el suero	80	15	5	0.2	0.002
Capacidad de fijación del complemento	Sí (+)	No	Sí (++)	No	No
Transferencia placentaria al feto[c]	+	–	–	–	–

[a] En secreciones, como saliva, leche y lágrimas y en secreciones de los sistemas respiratorio, intestinal y genital, la IgA se encuentra por lo general como dímeros o tetrámeros, pero en el suero existe principalmente como monómero.

[b] Subclases 1, 2 y 4. La subclase 3 tiene una semivida de siete días.

[c] Principalmente las subclases IgG1 e IgG3, pero todas las subclases se han detectado.

Dentro de las regiones variables de las cadenas tanto L como H se encuentran subregiones formadas por secuencias de aminoácidos extremadamente variables, llamadas **hipervariables**, que cooperan en el espacio para formar el sitio de unión a antígenos. Las regiones hipervariables forman el área de la molécula de Ig que tiene una estructura complementaria al determinante antigénico (epítopo). Esta área se conoce como región determinante de la complementariedad (CDR, *complementarity-determining región*). Sólo de cinco a 10 aminoácidos en cada región hipervariable constituyen el sitio de unión a antígenos. La unión de los antígenos no es covalente, sino que involucra fuerzas de van der Waals y electrostáticas, entre otras.

Clases de inmunoglobulinas

A. IgG

La IgG es la principal clase de inmunoglobulina presente en el suero. Esta molécula tiene cuatro cadenas, dos L y dos H (H_2L_2) (figura 8-5). Hay cuatro subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Cada subtipo contiene una cadena H distinta, pero relacionada, y cada una difiere un poco en cuanto a sus actividades biológicas. La IgG1 representa 65% del total de IgG. La IgG2 se dirige contra antígenos hechos de polisacáridos y puede ser una importante defensa del hospedador contra bacterias encapsuladas. La IgG3 es un activador efectivo del complemento por su rígida región de bisagra, mientras que la IgG4 no activa el complemento debido a su estructura compacta.

La IgG es la única clase de inmunoglobulina que cruza la placenta y por lo tanto es la más abundante en recién nacidos. El transporte específico de isotipos de IgG a través de la placenta favorece a las subclases IgG1 e IgG3. La IgG también media la opsonización de antígenos a través de la unión de complejos antígeno-anticuerpo a receptores del fragmento Fc, localizados sobre los macrófagos y otras células.

B. IgM

La primera inmunoglobulina producida en respuesta a un antígeno es la IgM. Este anticuerpo se secreta como un pentámero y está formado por cinco unidades H_2L_2 (similares a una unidad de IgG) y una molécula de una cadena J (figura 8-6). El pentámero (con un peso molecular de 900 000 Da) tiene un total de 10 sitios idénticos de unión a antígenos y por lo tanto una valencia de 10. Es la inmunoglobulina más eficiente para la aglutinación, la fijación del complemento y otras reacciones antígeno-anticuerpo y también es importante en la defensa contra bacterias y virus. Debido a que los 10 sitios de unión participan en la interacción con antígenos, la IgM tiene la mayor capacidad de adhesión y formación de puentes cruzados de todas las inmunoglobulinas. Valorar la presencia de este anticuerpo en el suero puede ser útil para diagnosticar ciertas enfermedades infecciosas. Por ejemplo, la IgM no cruza la placenta y su presencia en un feto o en un recién nacido proporciona evidencias de infección intrauterina.

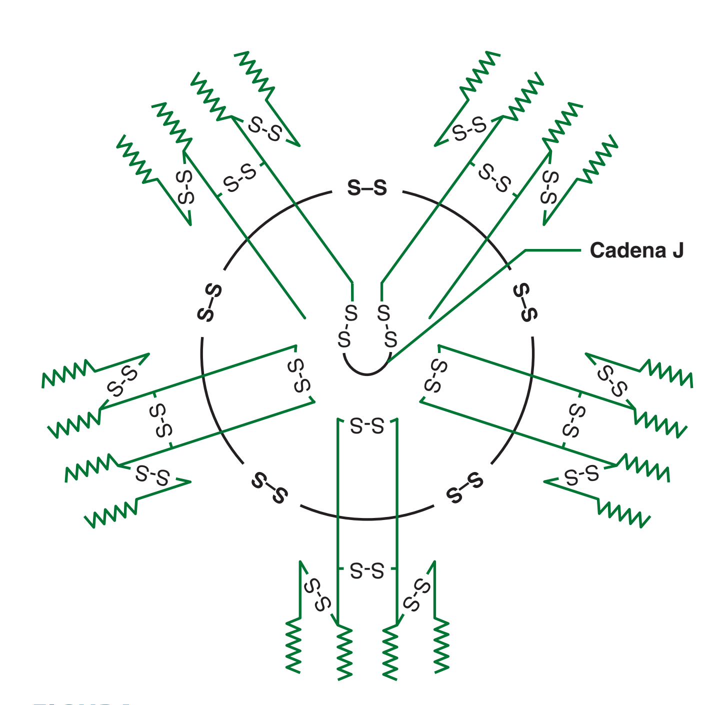


FIGURA 8-6 Diagrama esquemático de la estructura pentamérica de la IgM humana. Los monómeros de IgM están conectados entre sí y la cadena J por puentes disulfuro.

C. IgA

La IgA es la inmunoglobulina más importante en la inmunidad en las mucosas. Sus niveles en el suero son bajos; representan de 10 a 15% del total de las inmunoglobulinas séricas. En contraste, esta inmunoglobulina predomina en las secreciones vasculares. Los plasmocitos localizados en glándulas y membranas mucosas producen principalmente IgA, por lo tanto ésta se encuentra en sustancias como la leche, la saliva y las lágrimas, y en otras secreciones de los sistemas respiratorio, intestinal y genitourinario. Debido a sus ubicaciones, este anticuerpo entra en contacto con el ambiente externo y en consecuencia es la primera línea de defensa contra virus y bacterias.

Las propiedades de la IgA difieren dependiendo de su localización. En el suero, este anticuerpo se secreta como un monómero semejante a la IgG. En secreciones mucosas es un dímero, denominado IgA secretora, formado por dos monómeros que contienen dos polipéptidos adicionales: la cadena J que estabiliza la molécula y un componente secretor que se incorpora a la IgA secretora cuando se transporta a través de una célula epitelial. Hay al menos dos subclases de IgA: la IgA1 y la IgA2. Algunas bacterias (p. ej., *Neisseria* spp.) son capaces de destruir la IgA1 al producir una proteasa y en consecuencia pueden superar la resistencia mediada por anticuerpos en superficies mucosas.

D. IgE

La inmunoglobulina IgE está presente en muy pequeñas cantidades en el suero. La región Fc de esta inmunoglobulina se une a su receptor de alta afinidad ubicado en la superficie de mastocitos, basófilos y eosinófilos. Este anticuerpo actúa como receptor de los antígenos específicos que estimularon su producción. El complejo antígeno-anticuerpo resultante desencadena respuestas alérgicas inmediatas (anafilácticas) a través de la liberación de mediadores inflamatorios como la histamina.

E. IgD

La IgD está presente en pequeñas cantidades en el suero. Sin embargo, es la principal inmunoglobulina de superficie en linfocitos B maduros que no se han expuesto a ningún antígeno. Estos linfocitos portan IgD e IgM en una proporción de tres a uno. Aún no se conoce por completo la función de la IgD.

Genes de inmunoglobulinas y generación de diversidad

La capacidad que tiene un individuo para producir un número muy grande de moléculas de inmunoglobulina (cerca de 3×10^{11}), con una cantidad relativamente pequeña de genes, ha evolucionado a través de mecanismos genéticos especiales. Esto ocurre porque los genes de las Ig experimentan recombinación somática, la cual genera una gran diversidad de especificidades de anticuerpos.

Cada cadena de inmunoglobulina está formada por una región variable (V) y una constante (C). Para cada cadena (p. ej., cadena ligera kappa [κ], cadena ligera lambda [λ] y cinco cadenas pesadas [γH, μH, αH, δH y εH]) hay un acervo separado de segmentos de genes localizados en cromosomas distintos. En seres humanos, las familias de genes múltiples se encuentran en los siguientes cromosomas: λ en el cromosoma 22, κ en el cromosoma 2 y la familia de cadenas pesadas en el cromosoma 14. Cada uno de estos tres *loci* contiene un grupo de segmentos de genes V diferentes que están separados de los segmentos de genes C. Durante la diferenciación de los linfocitos B, el DNA se reordena para agrupar los segmentos de los genes identificados que sean adyacentes en el genoma.

En resumen, el proceso de reordenamiento de genes es complejo e implica un número de pasos. La región variable de cada cadena L es codificado por dos segmentos de genes: V y J. La región variable de cada cadena H es codificada por tres fragmentos génicos: V, D y J. Los segmentos se unen para formar un gen variable-V funcional por reordenamiento del DNA. Después cada uno de estos genes se transcribe junto con el gen constante-C apropiado para producir una RNA mensajero (mRNA, *messenger RNA*) que codifica la cadena peptídica completa. Las cadenas L y H se sintetizan por separado en polisomas y después se ensamblan en el citoplasma para formar las unidades catenarias H_2L_2. Después se agrega la porción de carbohidratos de la molécula de Ig, durante su paso a través de los organelos membranosos celulares (p. ej., el aparato de Golgi), y es liberada.

Este mecanismo de reordenamiento de genes genera una enorme variedad de moléculas de inmunoglobulina. La diversidad de anticuerpos depende de: 1) segmentos múltiples de genes V, D y J; 2) la asociación combinatoria, es decir, la conjugación de cualquier segmento de gen V con cualquier segmento D o J; 3) la combinación aleatoria de diferentes cadenas L y H; 4) hipermutación somática y 5) diversidad de unión producida por la adhesión imprecisa durante el reordenamiento.

Cambio de clase de inmunoglobulina

Al inicio, todos los linfocitos B unidos a un antígeno portan IgM específica para él y producen dicho anticuerpo. Después, el reordenamiento de genes genera anticuerpos de diferente clase pero con la misma especificidad antigénica. En el **cambio de clase**, el mismo gen V_H ensamblado puede vincularse de manera secuencial con diferentes genes C_H, de tal manera que la inmunoglobulina que se produce (IgG, IgA o IgE) tiene la misma especificidad que la IgM original pero con diferentes características biológicas. El cambio de clase depende de citosinas liberadas de los linfocitos T. En fecha reciente se ha demostrado que la IL-4, la IL-5, el IFN-γ y el factor transformador de crecimiento β (TGF-β, *transforming growth factor*-β) participan en la regulación del cambio de clase de Ig.

Respuestas mediadas por anticuerpos

A. Respuesta primaria

Cuando un individuo se encuentra con un antígeno por primera vez, el anticuerpo que se produce se detecta en el suero días o semanas después. Este lapso varía dependiendo de la naturaleza, la dosis y la vía de administración del antígeno (p. ej., oral o parenteral). La concentración sérica de anticuerpos continúa elevándose durante muchas semanas y después disminuye, en ocasiones hasta niveles muy bajos (figura 8-7). Los primeros anticuerpos que se producen son IgM. Después, IgG o IgA, o ambas. Los niveles de IgM tienden a disminuir antes que los de IgG.

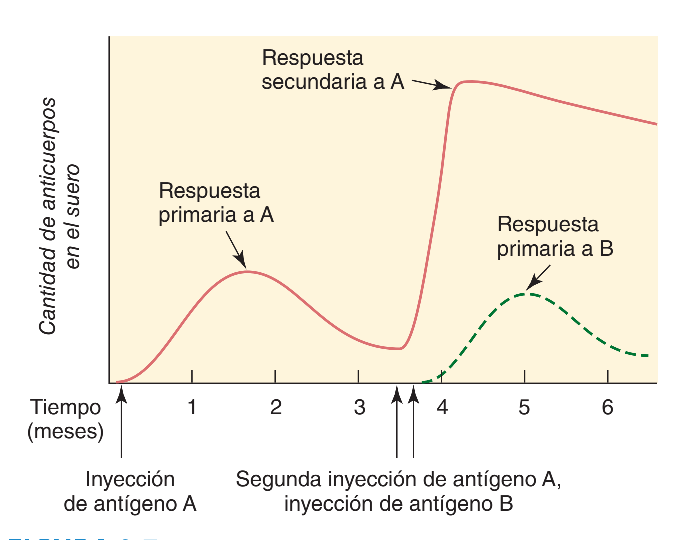


FIGURA 8-7 Tasa de producción de anticuerpos después de la administración inicial de un antígeno y una segunda inyección de "refuerzo".

B. Respuesta secundaria

Cuando ocurre un segundo encuentro con el mismo antígeno, meses o años después de la respuesta primaria, la segunda respuesta mediada por anticuerpos es más rápida y de mayor magnitud que la primera reacción (figura 8-7). Este cambio se atribuye a la persistencia de las células de memoria sensibles a antígenos que se generaron durante la respuesta inmunitaria primaria. En la respuesta secundaria, la cantidad de IgM producida es cualitativamente similar a la producida después del primer contacto con el antígeno; sin embargo, se produce más IgG que persiste durante mucho más tiempo que en la respuesta primaria. Además, dicho anticuerpo tiende a unirse a los antígenos con más firmeza (con mayor afinidad) y por lo tanto se disocia con menor facilidad.

Funciones protectoras de los anticuerpos

La función protectora de los anticuerpos se basa en el hecho de que es posible crear inmunoglobulinas específicas que reconocen patógenos determinados y se unen a ellos. Esta interacción desencadena una serie de respuestas defensivas por parte del hospedador. Los anticuerpos pueden generar resistencia a infecciones a través de cinco mecanismos principales:

1. Potenciación de la fagocitosis. Los anticuerpos producen resistencia al opsonizar (cubrir) organismos, lo cual facilita su ingestión por parte de fagocitos. Además, la inmunidad mediada por anticuerpos es más efectiva cuando se dirige contra infecciones por microbios cuya virulencia está relacionada con cápsulas de polisacáridos (p. ej., por neumococos, *Haemophilus* spp. y *Neisseria* spp.). En estas infecciones, los anticuerpos forman complejos con los antígenos capsulares y hacen a los organismos susceptibles a la ingestión por fagocitos. Esta internalización conduce a la destrucción del patógeno.

2. Neutralización de virus. Los anticuerpos dirigidos contra proteínas víricas específicas pueden unirse a los virus y bloquear su capacidad para adherirse a su receptor celular. Debido a que los virus ya no pueden invadir las células, no pueden replicarse.

3. Neutralización de toxinas. Los anticuerpos pueden neutralizar toxinas de microorganismos (p. ej., difteria, tétanos y botulismo) e inactivar sus efectos dañinos.

4. Lisis mediada por el complemento. La adhesión de anticuerpos a proteínas víricas en células infectadas, a células cancerígenas o a una pared celular microbiana puede activar el sistema del complemento, provocando así lisis celular.

5. Citotoxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC). La adhesión de anticuerpos específicos para virus a proteínas víricas en una célula infectada puede inducir la destrucción lítica de dicha célula. Esta lisis es mediada por una célula citolítica (un linfocito NK, un macrófago o un neutrófilo) que se une a la porción Fc específica de dicho anticuerpo activado. La ADCC mediada por eosinófilos es un importante mecanismo de defensa contra los helmintos. La IgE recubre a los parásitos y los eosinófilos se adhieren a la porción Fc de este anticuerpo y liberan el contenido de sus gránulos.

Formas de inmunidad

Puesto que los anticuerpos son protectores, se han desarrollado estrategias para inducir su producción (inmunidad activa) o para administrar al hospedador anticuerpos creados con anterioridad (inmunidad pasiva).

A. Inmunidad activa

Se confiere inmunidad activa cuando un individuo entra en contacto con un antígeno externo (agente infeccioso). Esta inmunidad puede ocurrir cuando hay una infección clínica o subclínica, se proporciona inmunización con organismos vivos o muertos, hay exposición a productos microbianos (p. ej., toxinas y toxoides) o se recibe un trasplante. En todos estos casos, el individuo produce anticuerpos de manera activa. Las inmunoglobulinas producidas durante la inmunidad activa tienen una duración prolongada. Sin embargo, la protección se retrasa hasta que la producción de anticuerpos alcanza un nivel eficaz.

B. Inmunidad pasiva

La inmunidad pasiva se genera a través de la administración de anticuerpos creados con anterioridad. La ventaja principal de este tipo de inmunización radica en que el receptor recibe una gran concentración de anticuerpos de forma inmediata. Esto no confiere protección a largo plazo, pero es útil cuando el paciente no tiene tiempo para producir sus propios anticuerpos. La inmunidad pasiva es eficaz contra ciertos virus (p. ej., el virus de la hepatitis B) que pueden transmitirse por lesiones con instrumentos punzantes o cortantes, en personas no vacunadas o inmunodeficientes, incapaces de producir anticuerpos.

La administración de anticuerpos no sólo confiere protección, sino que también puede tener efectos dañinos. En ocasiones, la inmunidad pasiva inicia reacciones de hipersensibilidad si los anticuerpos provienen de otra especie. Sin embargo, en la inmunidad activa la unión de anticuerpos a antígenos provoca

la formación de complejos inmunitarios circulantes. La deposición de estos complejos puede ser un factor importante en el desarrollo de disfunción de órganos. Por ejemplo, es posible que los complejos inmunitarios se depositen en los riñones e induzcan glomerulonefritis capaz de generar infecciones por estreptococos.

Linfocitos T

A. Inmunidad mediada por células

En la respuesta inmunitaria adaptativa, la interacción cooperativa entre la inmunidad celular y la mediada por anticuerpos proporciona la mejor oportunidad para combatir una infección. De hecho, respuestas efectivas mediadas por anticuerpos dependen de la activación de los linfocitos T. Esta sección se enfoca en la activación de dichas células, la forma en que reconocen a los antígenos, los subgrupos que existen, su función, su desarrollo, su proliferación y su diferenciación.

1. Desarrollo de los linfocitos T. Como se mencionó antes, los linfocitos T derivan de las mismas células madre hematopoyéticas que los linfocitos B. En el timo, los linfocitos T maduran y se transforman en células que expresan un TCR específico, gracias a la influencia de hormonas. Estas células experimentan recombinación VDJ en la cadena β y después reordenamiento de sus cadenas α. Después, pasan por dos procesos de selección: uno positivo y otro negativo. Durante la selección positiva sobreviven las células que reconocen a los antígenos y a los MHC propios con poca afinidad. A estas células se les denomina restringidas al MHC propio. Durante la selección negativa, las células que reconocen a los péptidos propios y a los MHC con gran afinidad son eliminadas. Los supervivientes, linfocitos T $CD4^+$ $CD8^+$, continúan madurando hasta transformarse en $CD4^+$ o en $CD8^+$. Sólo una minoría de linfocitos T en desarrollo expresa los receptores apropiados y entra a la periferia donde se une al acervo de linfocitos T maduros.

2. Receptor de linfocito T, aceptor de antígenos. El TCR es la molécula de reconocimiento de los linfocitos T. Es una proteína heterodimérica transmembrana que contiene dos cadenas unidas por puentes disulfuro. Existen dos clases diferentes de TCR: alfa-beta (α y β) y gamma-delta (γ y δ). La mayoría de los linfocitos T contiene el fenotipo TCR αβ y un porcentaje más pequeño expresa el TCR γδ. Los linfocitos T αβ se subdividen según sus marcadores de superficie en $CD4^+$ o $CD8^+$. Se conoce poco sobre las actividades de los linfocitos T γδ, sin embargo se sabe que se localizan principalmente en los epitelios de los sistemas gastrointestinal y reproductivo.

La estructura del TCR se asemeja a la del fragmento Fab de una inmunoglobulina; es decir, este receptor tiene regiones tanto variables como constantes. De forma más específica, cada cadena tiene dos dominios extracelulares: una región variable y una constante. La parte constante está más cerca de la membrana celular mientras que la variable se une al complejo péptido-MHC. Cuando el TCR se une a este complejo ocurre una serie de eventos, los cuales se discuten más adelante.

Como ocurre con las inmunoglobulinas, la diversidad del TCR es similar a la del BCR. La cadena α del TCR resulta de recombinación VJ mientras que la cadena β se genera por recombinación VDJ. Estos segmentos se pueden combinar de forma aleatoria en diferentes maneras para generar el complejo TCR.

Este complejo está formado por las cadenas altamente variables α y β del TCR, más las proteínas CD3 invariables. Éstas transducen la señal recibida por el TCR cuando ocurre el reconocimiento de antígenos. Las diferentes proteínas del complejo CD3 son moléculas transmembrana capaces de interactuar con cinasas de tirosina citosólicas que inician la traducción de señales que induce la transcripción de genes, la activación de células y las actividades funcionales de los linfocitos T.

Además del complejo TCR, la señal de los linfocitos T también es potenciada por la presencia de correceptores (segunda señal). Las moléculas CD4 y CD8 funcionan como moléculas correceptoras. Durante el reconocimiento de antígenos, estos CD interactúan con el complejo TCR y con moléculas del MHC localizadas sobre las APC. El CD4 se une a moléculas del MHC clase II y el CD8 a moléculas del MHC clase I.

3. Proliferación y diferenciación de los linfocitos T. La proliferación de los linfocitos T depende de una serie de eventos. En la presentación del MHC clase II se requieren dos señales para activar un linfocito T $CD4^+$ virgen. La primera señal proviene de la interacción entre el TCR (del linfocito T) y el complejo péptido-MHC, localizado en la APC. La glucoproteína CD4 del linfocito T virgen actúa como correceptor uniéndose a moléculas del MHC clase II. Este evento ayuda a estabilizar la unión entre ambas células. La segunda señal (coestimuladora) que se requiere para la activación del linfocito T deriva de la interacción entre moléculas coestimuladoras de la familia B7 (B7-1/B7-2 también conocidas como CD80 y CD86) pertenecientes a la APC con el CD28 del linfocito T. Éstas son las moléculas coestimuladoras principales. Al completarse estos dos pasos de estimulación (p. ej., la unión del TCR con el complejo MHC clase II-péptido y la unión del CD28 con B7-1/B7-2), se activa un grupo de vías bioquímicas que provocan la síntesis y la proliferación de DNA. Durante estos eventos, el linfocito T secreta citosinas, principalmente IL-2 e IFN-γ, e incrementa la expresión de receptores de IL-2. Estos linfocitos T son capaces de proliferar y transformarse en células efectoras.

La activación de los linfocitos T $CD8^+$ ocurre cuando el TCR interactúa con el complejo MHC clase I-péptido de una célula infectada. La glucoproteína CD8 actúa como correceptor, uniéndose a moléculas de MHC clase I provenientes de la APC. De nuevo, esta interacción mantiene a las dos células unidas durante la activación. Una vez que el linfocito citotóxico se ha activado, produce IL-2 e IFN-γ, factores de crecimiento y diferenciación para linfocitos T. A diferencia de la activación de los linfocitos $CD4^+$, la activación de los linfocitos T $CD8^+$ en la mayoría de los casos no depende de coestimulación y una célula infectada por un virus es destruida mediante la liberación del contenido de los gránulos citotóxicos del linfocito $CD8^+$.

B. Funciones de los linfocitos T efectores

1. Células efectoras CD4. Los linfocitos T $CD4^+$ que proliferan pueden transformarse en una de cuatro principales

categorías de linfocitos T efectores: **Th1**, **Th2**, **Th17** o **linfocitos T reguladores (T reg)**.

Th1. Las células **Th1** se activan por las interleucinas 2 y 12, y activan a los macrófagos o provocan que los linfocitos B cambien la producción de anticuerpos a diferentes subclases de IgG. En cualquier caso, esto puede promover la eliminación de bacterias por destrucción directa mediante macrófagos activados por IFN-γ o por destrucción de partículas opsonizadas fagocitadas. Estas células Th1 también producen IL-2 e IFN-γ.

Th2. Las células **Th2** predominan en un ambiente donde se produce Il-4. Éstas activan mastocitos y eosinófilos, y provocan que los linfocitos B sinteticen IgE. Ésto ayuda en la respuesta contra helmintos. Las células Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13.

Th17. Cuando hay TGF-β, IL-6 e IL-23, los linfocitos T $CD4^+$ pueden transformarse en células **Th17**. Éstas producen IL-17, IL-21 e IL-22. La IL-17 es una citosina que induce la producción de IL-8 en células epiteliales y del estroma. Esta interleucina es una quimiocina potente que se encarga de reclutar neutrófilos y macrófagos en tejidos infectados.

T reg. Los linfocitos T $CD4^+$ pueden transformarse en **T reguladores** (**T reg**) cuando son expuestos sólo a TGF-β. Estas células suprimen las respuestas de los linfocitos T. Se identifican por la expresión de CD4 y CD25 en su superficie y el factor de transcripción, Foxp3. Los linfocitos T reg producen TGF-β e IL-10, moléculas que suprimen las respuestas inmunitarias.

2. Linfocitos CD8 efectores. Los linfocitos T **$CD8^+$** se transforman en células citolíticas efectoras cuando su TCR reconoce al complejo MHC clase I-péptido en la superficie de una célula infectada, eliminándola. El método principal de eliminación involucra gránulos citotóxicos que contienen perforinas, la familia de granzimas y una tercera proteína recientemente identificada llamada granulisina. Las perforinas ayudan a las granzimas y a la granulisina a entrar a la célula infectada. Las granzimas inician la apoptosis (muerte celular programada) al activar a las caspasas celulares. Debe notarse que ocurre un proceso similar cuando los linfocitos T $CD8^+$ reconocen a células cancerígenas. Véase el artículo de Murphy (2011) para obtener información adicional.

COMPLEMENTO

El sistema del complemento, una compleja y sofisticada cascada de varias proteínas, está diseñado para proporcionar defensa contra microbios invasores. El sistema del complemento incluye proteínas séricas y de membrana que participan en la inmunidad innata y en la adaptativa. Estas proteínas están muy reguladas e interactúan a través de una serie de cascadas proteolíticas. Muchos de los componentes del complemento son proenzimas, las cuales se deben dividir para formar enzimas activas.

Efectos biológicos del complemento

Las proteínas del complemento activadas inician una variedad de funciones que tienen cuatro resultados principales: 1, citólisis, 2, quimiotaxia, 3, opsonización y 4, producción de anafilatoxinas.

1. La *citólisis* es la lisis de células cancerígenas o células infectadas por virus o bacterias. Este proceso ocurre mediante el desarrollo del complejo de ataque de membrana (MAC, *membrane attack complex*) (C5b, 6, 7, 8, 9), el cual se inserta en la membrana de un organismo o una célula. El MAC perfora la membrana celular, lo cual provoca pérdida de la integridad osmótica y rotura del microbio o célula.
2. La *quimiotaxia* es el movimiento dirigido de los leucocitos en contra de un gradiente de concentración, hacia el sitio de una infección. Este movimiento ocurre en respuesta a un factor quimiotáctico. Una de las sustancias quimiotácticas más importantes es la molécula C5a, un fragmento de la proteína C5 que estimula el movimiento de neutrófilos y monocitos hacia sitios de inflamación.
3. *Opsonización* es un término que se usa para describir la manera en la que los anticuerpos o la proteína C3b pueden potenciar la fagocitosis de microbios. Los macrófagos y los neutrófilos tienen receptores para C3b y por lo tanto pueden unirse a organismos cubiertos con dicha molécula. Esta unión activa la fagocitosis.
4. Las *anafilatoxinas* promueven la vasodilatación e incrementan la permeabilidad vascular. Dos componentes del complemento, C3a y C5a son anafilatoxinas potentes. Ambas se unen a receptores ubicados en los mastocitos y los basófilos para que liberen histamina. Este evento aumenta el flujo sanguíneo hacia el sitio de la infección, permitiendo que más proteínas del complemento, anticuerpos y células inmunitarias entren al sitio afectado.

Vías del complemento

Hay tres vías principales que activan el complemento: la clásica, la alternativa y la MBL (figura 8-8). Cada una de éstas provoca la formación de MAC y la liberación de convertasa C5, la cual se divide en los fragmentos C5a y C5b. Como se mencionó antes, C5a es una anafilatoxina y un factor quimiotáctico. C5b se une a C6 y a C7 para formar un complejo que se inserta en la membrana. Después, C8 se une al complejo C5b-C6-C7, lo cual induce la polimerización de hasta 16 moléculas de C9 para producir el MAC. Éste genera un poro en la membrana y provoca citólisis al permitir el libre paso de agua a través de la membrana celular.

Vía clásica

La molécula C1, que se une a la región Fc de una inmunoglobulina, está formada por tres proteínas: C1q, C1r y C1s. C1q es un agregado de polipéptidos que se une a la porción Fc de la IgG y de la IgM. El complejo antígeno-anticuerpo se une a C1 y activa a C1s, que divide a C4 y C2 para formar C4b2b. Esta proteína es una convertasa activa que divide a C3 en dos fragmentos: C3a y C3b. Como se mencionó antes, C3a es una anafilatoxina potente. C3b forma un complejo con C4b2b, produciendo una nueva enzima (la convertasa de C5) que divide a C5 para formar C5a y C5b. C5b ahora está disponible para unirse a C6 y C7, y formar el complejo C5b/C6/C7. Por último, C9 se une a este complejo recién formado para producir la formación del MAC. Una vez que esto ocurre, la lisis celular sucede poco tiempo después. Sólo la IgM y la IgG fijan al complemento a

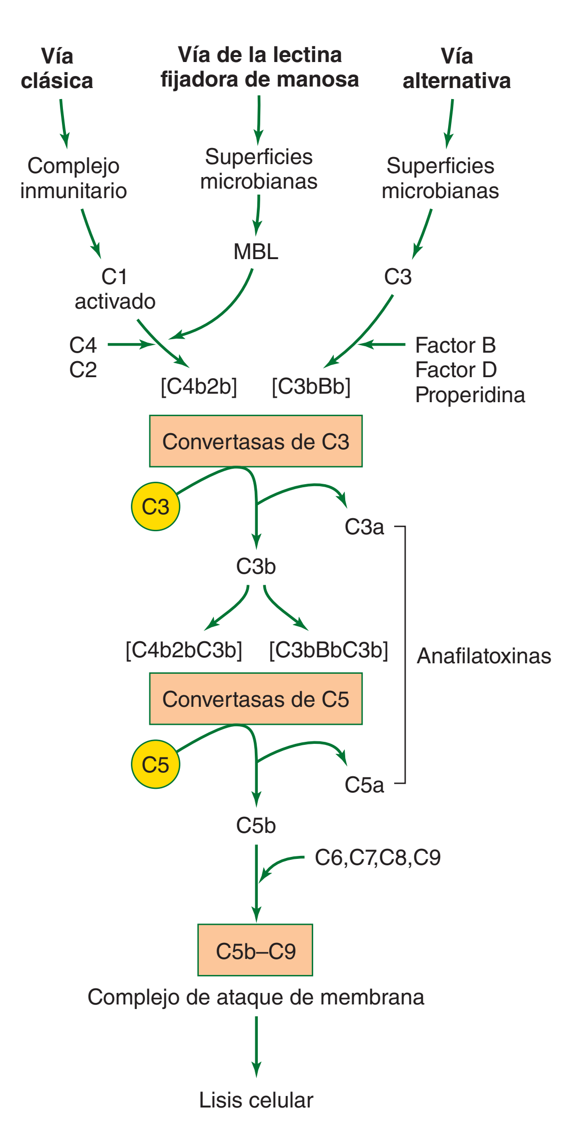


FIGURA 8-8 Secuencia de reacciones del sistema del complemento.

través de la vía clásica. Además, sólo las subclases 1, 2 y 3 de la IgG fijan al complemento, a diferencia de la IgG4.

Un ejemplo de la vía clásica del complemento en acción se puede observar en las infecciones por el virus del herpes simple (HSV, *herpes simplex virus*). La replicación de este virus dentro de las células está acompañada de la inserción de proteínas víricas en la superficie de la membrana celular. Un anticuerpo anti-HSV específico puede unirse a la superficie de la célula infectada por su fragmento Fab. La porción Fc del complejo antígeno-anticuerpo queda ahora expuesta y está lista para que se adhiera la proteína C1. La vía clásica ahora queda activada y la célula infectada es destruida por el MAC.

Vía alternativa

La vía alternativa del complemento puede ser activada por agentes infecciosos que inducen el sistema del complemento al iniciar la producción celular de los factores B, D y properdina. Estos factores dividen a C3 y generan convertasa de C3. Esta molécula (C3bBb) que se produjo en la vía alternativa crea más C3b. La C3b adicional se une a la convertasa de C3 para formar C3bBbC3b. Esta enzima es la convertasa C5 de la vía alternativa que genera C5b, lo que provoca la producción del MAC antes descrito.

Vía de la lectina fijadora de manosa

La vía de la lectina es un componente importante de la respuesta inmunitaria innata y es similar a la vía clásica en el punto de división de C4. Sin embargo, la diferencia principal radica en que inicia por la unión de lectina fijadora de manosa (MBL, *mannose-binding lectin*) a polisacáridos localizados en la superficie de las bacterias. La unión de MBL a un patógeno resulta en la formación de un complejo triple de MBL con dos proteasas de serina (MASP-1 y MASP-2). Este complejo triple ahora es activado para dividir a C4 en C4a y C4b y a C2 en C2a y C2b. El nuevo complejo C4bC2a es una convertasa de C3 y la serie de reacciones procede como en la vía clásica.

A. Regulación del sistema del complemento

Para evitar la constante activación del complemento, existe una red reguladora para terminar su actividad. Muchas proteínas séricas regulan el sistema del complemento en etapas diferentes: 1) la proteína inhibidora C1 se une a C1r y C1s e inactiva su actividad de proteasa de serina, provocando que se disocien de C1q; 2) el factor I divide a C3b y a C4b, reduciendo así la cantidad de convertasa de C5 disponible; 3) el factor H potencia el efecto del factor I sobre C3b y (4) el factor P (properdina) protege a C3b y estabiliza la convertasa de C3 de la vía alternativa. Proteínas con la capacidad de acelerar la destrucción de las proteínas del complemento también sirven como reguladores, tales como el factor de aceleración de la destrucción (DAF, *decay-accelerating factor*) que se expresa en la sangre y las células endoteliales, y puede apresurar la disociación de convertasas C3 de las tres vías.

Deficiencias del complemento y evasión de patógenos

Se han descrito muchas deficiencias genéticas de las proteínas del complemento; éstas por lo general incrementan la susceptibilidad a desarrollar enfermedades infecciosas (p. ej., la deficiencia de C2 a menudo provoca infecciones piogénicas graves). La deficiencia de los componentes de la MAC mejora de manera considerable la susceptibilidad a las infecciones por neisseria. También se conocen deficiencias de los componentes de la vía alternativa (p. ej., la insuficiencia de properdina está relacionada con mayor susceptibilidad a enfermedades meningocócicas). También hay deficiencias de proteínas que regulan al complemento. Por ejemplo, la falta de la proteína inhibidora C1 causa angioedema hereditario.

El complemento es un importante sistema protector del hospedador. Sin embargo, algunas bacterias han desarrollado mecanismos para evadir la actividad del complemento. Por ejemplo, son capaces de interferir con la opsonización u obstruir la inserción del MAC. La activación del complemento también se inhibe por la presencia de proteínas producidas por las bacterias, como la proteína A y la proteína C, que se unen a la porción Fc de la IgG. Por último, pueden producir enzimas

que degradan componentes del complemento. Los organismos que poseen estas propiedades inhibidoras por lo general son más patogénicos.

El sistema del complemento también ha desarrollado estrategias para atacar a virus libres y a células infectadas por virus. En respuesta, los virus han desarrollado mecanismos para evadir el ataque del complemento. Algunos virus, como el de la viruela, codifican proteínas capaces de inhibir la función del complemento del hospedador. Otros virus con envoltura, como un citomegalovirus, pueden recoger algunas de las proteínas reguladoras del complemento conforme maduran salen de la célula infectada. Estas proteínas reguladoras (CD46, CD55 y CD59) presentes en la envoltura del virus son capaces de inhibir la activación del complemento. Por último, muchos virus (p. ej., el virus de Epstein-Barr [EBV, *Epstein-Barr virus*] y el del sarampión) utilizan receptores del complemento para entrar a las células e infectarlas.

CITOSINAS

En las dos últimas décadas se ha incrementado en gran medida el estudio de la biología de las citosinas. Estas moléculas son potentes reguladores celulares proteínicos de bajo peso molecular, que son producidos de forma transitoria y regional por numerosos tipos de células. Hoy se reconoce que las citosinas son proteínas multifuncionales cuyas propiedades biológicas sugieren una función importante en la hematopoyesis, la inmunidad, las enfermedades infecciosas, la formación de tumores, la homeostasis, la reparación de los tejidos y el desarrollo y el crecimiento celulares.

Las citosinas por lo general actúan como moléculas de señalización al unirse a sus propios receptores glucoproteínicos localizados en las superficies celulares. Esta interacción inicial es seguida por la transmisión de la señal al núcleo de la célula. La transducción de señales es mediada, como en muchos sistemas receptores de hormonas, a través de la fosforilación de proteínas citoplasmáticas mediante cinasas. De hecho, la actividad de cinasa de tirosina es característica de muchos receptores de citosinas. Debido a su participación en múltiples actividades inmunitarias, las citosinas se mencionan a lo largo de este capítulo. En los siguientes párrafos se describen las citosinas principales y sus funciones.

Clasificación y funciones

Las citosinas se categorizan en grupos con base en sus funciones comunes. Algunos ejemplos de categorías funcionales son la inmunorregulación, la proinflamación e inhibición de la inflamación, la quimiotaxia, la adhesión molecular, el crecimiento y la diferenciación. El IFN-γ es una citosina inmunorreguladora importante, debido a su importante participación en la presentación de antígenos. Las citosinas proinflamatorias por lo general proliferan en enfermedades infecciosas e incluyen la IL-1, la IL-6, el TNF-α y los interferones. Algunas citosinas antiinflamatorias son el TGF-β, el IFN-β y las interleucinas 10 y 11. Éstas pueden ser necesarias para disminuir una respuesta inflamatoria hiperactiva. Entre las citosinas importantes para el crecimiento o la diferenciación se encuentran los factores estimulantes de colonias (CSF, *colony-stimultating factors*) y el factor de células madre. En el cuadro 8-3 se muestran las fuentes y las principales actividades de citosinas selectas.

Citosinas en el desarrollo de células inmunitarias y defensa del hospedador contra infecciones

Los linfocitos T $CD4^+$ vírgenes se transforman en clases diferentes dependiendo del ambiente exógeno de citosinas. Las células Th1 se desarrollan en presencia de IL-12; las Th2 se forman gracias a la acción de IL-4; las células Th17 se producen en presencia de TGF-β, IL-6 e IL-23, y las T reg se crean en presencia sólo de TGF-β. Cada uno de estos cuatro linajes produce citosinas que tienen una función primordial en la defensa del hospedador contra microorganismos selectivos. Las células Th1 producen IL-2 e IFN-γ, citosinas capaces de controlar con eficacia infecciones víricas y organismos intracelulares como micobacterias y *Toxoplasma gondii*. El IFN-γ es un importante activador de macrófagos y linfocitos T citotóxicos $CD8^+$. Las células Th2 producen las interleucinas 4, 5, 6, 10 y 13, citosinas que dirigen respuestas mediadas por IgE y ayudan a controlar infecciones parasitarias. Las células Th17 producen IL-17, una citosina que atrae neutrófilos y protege al hospedador en barreras epiteliales y mucosas. Se ha demostrado que la IL-17 limita infecciones en la piel por *Staphylococcus aureus*, en el colon por *Citrobacter rodentium*, en los pulmones por *Klebsiella pneumoniae*, en la boca por *Candida albicans* y en la vagina por *Chlamydia*. También se ha demostrado que la IL-17 inhibe infecciones fúngicas provocadas por *Pneumocystis carinii*. Estudios recientes han demostrado que mutaciones en los genes que codifican la IL-17 y sus receptores predisponen a los individuos a experimentar mucocandidiasis crónica por *C. albicans*. Por último, los linfocitos T reg son células reguladoras que ayudan a suprimir la proliferación de linfocitos T y a mantener la tolerancia a los antígenos propios. Se ha sugerido que la función de los linfocitos T reg es facilitada en parte por la producción de citosinas inmunosupresoras, como la IL-10 y el TGF-β.

Este análisis sobre la diferenciación de linfocitos T demuestra la forma en la que subgrupos de estas células secretan sus propias citosinas con distintas propiedades reguladoras. Por lo tanto, las citosinas dirigen el tipo de respuesta inmunitaria protectora que se genera.

Aplicaciones clínicas

Hasta la fecha hay al menos cuatro aplicaciones clínicas para las citosinas. En primer lugar, estas moléculas pueden actuar como biomarcadores de enfermedades y proporcionar pistas para descifrar mecanismos fisiopatogénicos. Por ejemplo, las citosinas proinflamatorias TNF-α, IL-1 e IL-6 pueden detectarse en el suero de pacientes con choque séptico. Estas moléculas parecen tener una función importante en el desarrollo de choque séptico, y monitorizar su presencia puede tener valor pronóstico en casos de septicemia grave. En segundo lugar, la medición de la producción de citosinas *in vitro* sirve para monitorizar el estado del sistema inmunitario. El funcionamiento de los linfocitos T se refleja en su capacidad para

CUADRO 8-3 Citosinas selectas: producción y actividades

Familia de citosinas	Tipo celular primario[a]	Actividad
Interferones		
Alfa	Leucocitos	Antivírica, inmunorreguladora (potencia la actividad de los linfocitos NK y del MHC clase I), antiproliferativa
Beta	Fibroblastos y células epiteliales	Antivírica, inmunorreguladora (potencia la actividad de los linfocitos NK y del MHC clase I), antiproliferativa
Gamma	Linfocitos T y NK	Antivírica, inmunorreguladora (potencia la activación de los macrófagos y los MHC clases I y II), antiproliferativa
TNF		
Alfa	Macrófagos y linfocitos	Activa macrófagos y células citotóxicas e induce caquexia, proteínas de fase aguda y citosinas como las interleucinas 1 y 6
Beta	Linfocitos T	Activa macrófagos e induce citosinas (IL-1 e IL-6)
Interleucinas		
IL-1	La mayoría de las células, macrófagos y células dendríticas	Induce inflamación, fiebre y septicemia. Activa al TNF-α
IL-2	Linfocitos T	Induce proliferación y maduración de linfocitos T
IL-6	La mayoría de las células	Estimula linfocitos B y media reacciones de fase aguda
IL-10	Linfocitos T y monocitos/macrófagos	Inhibe la producción de IFN-γ e IL-12
IL-11	Células del estroma de la médula ósea (BM, *bone marrow*)	Tiene efectos sinérgicos sobre la hematopoyesis y la trombopoyesis, efectos citoprotectores en células epiteliales e induce inmunosupresión
IL-12	Células dendríticas, macrófagos y linfocitos B	Induce la producción de IFN-γ, TNF-α e IL-12 por parte de linfocitos T y NK activos e inactivos
IL-15	Linfocitos T, astrocitos, microgliocitos, fibroblastos y células epiteliales	Promueve actividades biológicas similares a las de la IL-2, induce la proliferación de sangre periférica y células mononucleares y la maduración de linfocitos NK (IL-1, IFN-γ y TNF-α)
IL-17 (A-F)	Linfocitos Th17	Estimula la producción de IL-6, IL-8, G-CSF e ICAM-1 proinflamatoria, por parte de fibroblastos y células epiteliales y endoteliales
IL-23	Macrófagos y células dendríticas	Tiene actividad similar a la de la IL-12 (induce al IFN-γ) y ayuda a la transformación de linfocitos T CD4$^+$ en células Th17
Factores de crecimiento		
M-CSF	Monocitos	Induce la proliferación de precursores de macrófagos
G-CSF	Macrófagos	Induce la proliferación, la diferenciación y la activación de neutrófilos
GM-CSF	Linfocitos T y macrófagos	Induce la proliferación de granulocitos y precursores de macrófagos
Factor de células madre	Células del estroma de la BM, fibroblastos y hepatocitos fetales	Induce la proliferación y la diferenciación de células mieloides y linfoides tempranas (experimenta sinergia con otras citosinas)
TGF-β	La mayoría de las células	Tiene actividad antiinflamatoria, dirige la transformación de linfocitos T CD4$^+$ en linfocitos T reg; en presencia de IL-6 promueve el cambio de linfocitos T CD4$^+$ a células Th17
VEGF-A	La mayoría de las células	Estimula la angiogénesis
Quimiocinas		
IL-8 (CXCL8)	La mayoría de las células	Quimiotaxia y activación de neutrófilos
RANTES (CCL5)	La mayoría de las células	Quimiotaxia de linfocitos T, monocitos, eosinófilos y basófilos
CXCL9 CXCL10 CXCL11	La mayoría de las células	Quimiotaxia de linfocitos Th1 (linfocitos T CXCR3 positivos) y son inducidas por los IFN
Moléculas de adhesión		
ICAM-1	Células endoteliales	Adhesión y migración
VCAM-1	Leucocitos	Adhesión y migración
Selectina E	Células endoteliales	Adhesión y migración

[a] Esta lista no es inclusiva; se han identificado células primarias.

producir IFN-γ. Este parámetro se utiliza en la actualidad para identificar reactividad contra tuberculosis (TB) y se expone más adelante. En tercer lugar, las citosinas recombinantes son antibióticos importantes. Un ejemplo de esto se puede observar en los interferones. La FDA ha aprobado el uso de IFN-α para tratar hepatitis C, de IFN-β como terapia para esclerosis múltiple y de IFN-γ para la enfermedad granulomatosa crónica (CGD, *chronic granulomas disease*). En cuarto lugar, las citosinas pueden ser tratamientos efectores. En fecha reciente se han utilizado de manera efectiva antagonistas de receptores de citosinas y anticuerpos monoclonales contra dichas moléculas, debido a que ambos disminuyen las respuestas patogénicas a la producción exagerada de citosinas. Algunos ejemplos son los inhibidores del TNF-α, utilizados para tratar artritis reumatoide (RA, *rheumatoid arthritis*), y los inhibidores de IL-2 e IL-15, usados en pacientes con trasplantes y cáncer.

HIPERSENSIBILIDAD

La **hipersensibilidad** es una respuesta inmunitaria exagerada que es dañina para el hospedador. Esta condición requiere de un estado de sensibilización previa. Por ejemplo, en un individuo determinado este tipo de reacciones por lo general ocurre después de un segundo encuentro con un antígeno específico (alérgeno).

En 1963, Coombs y Gell clasificaron la hipersensibilidad en cuatro tipos: I, II, III (mediada por anticuerpos) y IV (mediada por linfocitos T).

Tipo I: hipersensibilidad inmediata (alergia)

La hipersensibilidad tipo I se manifiesta como reacciones hísticas que ocurren segundos después de que un antígeno se ha combinado con su IgE específica. Los síntomas pueden manifestarse como anafilaxia sistémica (p. ej., después de la administración intravenosa de proteínas heterólogas) o como una reacción local (p. ej., una alergia atópica que involucra rinitis, como ocurre en la fiebre del heno).

El mecanismo general de la hipersensibilidad inmediata involucra una serie de pasos. Primero, un antígeno induce la formación de IgE, la cual se une con firmeza, por su porción Fc, a receptores de IgE de alta afinidad ubicados sobre mastocitos, basófilos y quizá eosinófilos. Si un individuo experimenta una segunda exposición al mismo antígeno cierto tiempo después, habrá entrecruzamiento entre las moléculas de IgE unidas a las células antes mencionadas y se liberarán mediadores farmacológicamente activos. Los nucleótidos cíclicos y el calcio son esenciales para la liberación de estas moléculas.

Los mediadores farmacológicos de la hipersensibilidad tipo I son los siguientes:

1. Histamina. La histamina existe en un estado preformado en las plaquetas y en los gránulos de mastocitos, basófilos y eosinófilos. Su liberación provoca vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar y contracción de músculo liso (p. ej., broncoespasmo). Los antihistamínicos bloquean los receptores de histamina y son relativamente efectivos para tratar casos de rinitis alérgica. La histamina es uno de los principales mediadores de las reacciones de tipo I.

2. Prostaglandinas y leucotrienos. Las prostaglandinas y los leucotrienos son mediadores provenientes del ácido araquidónico, que se forman través de la vía de la ciclooxigenasa. Las prostaglandinas inducen edema y broncoespasmo. El leucotrieno B4 es una sustancia quimiotáctica que activa y recluta leucocitos en sitios de lesión. Los leucotrienos C4 y D4 causan vasodilatación y permeabilidad vascular. Estas moléculas, junto con el TNF-α y la IL-4, se conocen como mediadores secundarios de una reacción de tipo I.

A. Atopia

Los trastornos de hipersensibilidad atópica exhiben una predisposición familiar fuerte y se relacionan con niveles altos de IgE. La predisposición a la atopia es claramente genética, sin embargo los síntomas son inducidos por exposición a alérgenos específicos. Estos antígenos por lo general son ambientales (p. ej., pólenes, ambrosias o polvo) o alimentos (p. ej., mariscos). La fiebre del heno, el asma, el eccema y la urticaria son manifestaciones clínicas comunes. Muchos pacientes experimentan reacciones de tipo inmediato a pruebas cutáneas (inyecciones, parches o rascado) que involucran al antígeno ofensor.

B. Tratamiento y prevención de reacciones anafilácticas

El tratamiento tiene como objetivo revertir la acción de los mediadores al mantener permeables las vías respiratorias, con ventilación artificial si es necesario, y dar soporte a la función cardiaca. A menudo se administran adrenalina, antihistamínicos y corticosteroides. Sin embargo, el mejor método de prevención recae en la identificación del antígeno (detectado por pruebas cutáneas o serología de IgE) y evitar contactos subsiguientes.

Tipo II: hipersensibilidad

La hipersensibilidad tipo II implica la unión de anticuerpos IgG a antígenos de superficie celular o a moléculas de la matriz extracelular. Un anticuerpo dirigido contra antígenos de superficie celular es capaz de activar el complemento o dañar a las células portadoras. El resultado puede ser lisis mediada por el complemento, como ocurre en la anemia hemolítica, reacciones a los grupos ABO por transfusiones y enfermedad hemolítica por el factor Rh.

Fármacos como la penicilina pueden adherirse a proteínas superficiales de eritrocitos e iniciar la formación de anticuerpos. Estas inmunoglobulinas autoinmunitarias después se combinan con la superficie celular y provocan hemólisis. En el síndrome de Goodpasture se generan anticuerpos contra las membranas basales de los riñones y los pulmones. Esto activa el complemento, induce quimiotaxia de leucocitos y genera daño grave de las membranas. En algunos casos, los anticuerpos contra los receptores de las superficies celulares alteran la función de las células sin dañarlas (p. ej., como ocurre en la enfermedad de Graves, en la que un autoanticuerpo se une al receptor de la hormona estimulante de la tiroides, lo cual genera estimulación de dicha glándula e hipertiroidismo).

Tipo III: hipersensibilidad por complejos inmunitarios

Cuando un anticuerpo se combina con su antígeno específico, se forman complejos inmunitarios. Éstos, por lo general, se eliminan de inmediato, pero en ocasiones persisten y se depositan en los tejidos. En infecciones bacterianas o víricas persistentes pueden depositarse complejos inmunitarios en los órganos (p. ej., los riñones), lo cual resulta en insuficiencia del órgano afectado y daño hístico. En las enfermedades autoinmunitarias, los antígenos "propios" inducen la formación de anticuerpos que se unen a ellos o se depositan en órganos y tejidos en forma de complejos, en particular en las articulaciones (artritis), los riñones (nefritis) y los vasos sanguíneos (vasculitis). Por último, ciertos antígenos ambientales, como las esporas de hongos y ciertos fármacos, son capaces de provocar la formación de complejos inmunitarios que causan daño similar de órganos y tejidos.

Siempre que se depositan complejos inmunitarios se puede activar el complemento. Una vez que esto ocurre, macrófagos y neutrófilos migran al sitio de inflamación y ocurre daño hístico. Hay dos tipos principales de hipersensibilidad mediada por complejos inmunitarios. Uno de ellos se produce de forma local y se denomina reacción **Arthus**. Ésta ocurre cuando se inyecta una pequeña dosis de antígeno en la piel. Esto induce la producción de anticuerpos IgG y la activación del complemento. Además se estimula la liberación de mediadores, provenientes de mastocitos y neutrófilos, que incrementan la permeabilidad vascular. Esta reacción por lo común ocurre en un lapso de 12 h. Otro ejemplo de hipersensibilidad tipo III involucra enfermedades sistémicas por complejos inmunitarios, como la glomerulonefritis posestreptocócica aguda.

La **glomerulonefritis posestreptocócica aguda** es una patología bien conocida, provocada por complejos inmunitarios. Inicia varias semanas después de una infección por estreptococo β-hemolítico del grupo A, en particular en la piel, y a menudo también ocurre después de una infección por tipos nefritogénicos de estreptococos. El nivel de proteínas del complemento por lo general es bajo, lo que sugiere una reacción antígeno-anticuerpo que las consume. A lo largo de la membrana basal glomerular se observan depósitos grumosos de inmunoglobulinas conjugadas con la proteína C3 del complemento. Estas membranas pueden teñirse con inmunofluorescencia y visualizarse con microscopia con luz UV. Este tipo de patrón revela complejos antígeno-anticuerpo. Es probable que complejos estreptocócicos antígeno-anticuerpo se filtren hacia afuera de los glomérulos, fijen el complemento y atraigan neutrófilos. Esta serie de eventos provoca un proceso inflamatorio que daña los riñones.

Tipo IV: hipersensibilidad mediada por células (tardía)

La hipersensibilidad mediada por células es una respuesta inducida por los linfocitos T. La interacción entre antígenos y linfocitos T sensibilizados de forma específica resulta en la proliferación de dichas células, la liberación de citosinas inflamatorias potentes (IFN-γ e IL-2), y la activación de macrófagos. Esta respuesta inflamatoria a menudo comienza dos o tres días después del contacto con el antígeno y por lo general dura muchos días.

A. Hipersensibilidad por contacto

La hipersensibilidad por contacto ocurre después de eventos de sensibilización con sustancias químicas simples (p. ej., el níquel o el formaldehído), materiales de plantas (p. ej., hiedra venenosa o roble venenoso), medicamentos de aplicación tópica (p. ej., sulfonamidas o neomicina), algunos cosméticos, jabones y otras sustancias. En todos los casos entran pequeñas moléculas a la piel y después actúan como haptenos, que se adhieren a las proteínas del cuerpo para transformarse en antígenos completos. En estos casos se induce hipersensibilidad mediada por células, en particular en la piel. Cuando se entra de nuevo en contacto con el agente ofensor, la persona sensibilizada desarrolla eritema, prurito, vesículas, eccema o necrosis cutáneos en 12 a 48 h. Para impedir recurrencias hay que evitar el contacto con el material incitante. Una prueba cutánea puede identificar el antígeno en cuestión. Las células de Langerhans en la epidermis, que interactúan con los linfocitos $CD4^+$ Th1, parecen intervenir en esta respuesta.

B. Hipersensibilidad similar a la de la tuberculina

La hipersensibilidad tardía a antígenos de microorganismos ocurre en numerosas enfermedades infecciosas y se ha utilizado como adyuvante para el diagnóstico. La reacción a la tuberculina es un buen ejemplo de una respuesta de hipersensibilidad tardía (DTH, *delayed-type hypersensitivity*). Cuando se inyecta una pequeña cantidad de tuberculina en la epidermis de un paciente que ya ha sido expuesto a *Mycobacterium tuberculosis*, hay una reacción inmediata discreta. De forma gradual, sin embargo, se desarrolla induración y enrojecimiento que alcanzan su máxima expresión en 24 a 72 h. Las células mononucleares, en particular los linfocitos T $CD4^+$ Th1, se acumulan en el tejido subcutáneo. Una prueba cutánea positiva indica que la persona ha sido infectada por el microorganismo pero no implica la presencia de la enfermedad. No obstante, un cambio reciente de la respuesta a la prueba cutánea (de negativa a positiva) sugiere una infección reciente y posible actividad concomitante.

DEFICIENCIAS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA

Enfermedades por inmunodeficiencia

La inmunodeficiencia se divide en dos categorías: primaria y secundaria. Las enfermedades por inmunodeficiencia primaria son trastornos del sistema inmunitario en los cuales el defecto se encuentra en las células del sistema inmune. En las enfermedades por inmunodeficiencia secundaria, el defecto es inducido por factores externos como virus, cáncer y fármacos. Esta sección es claramente relevante para el estudio de la microbiología médica, puesto que las enfermedades por inmunodeficiencia primaria por lo general se identifican primero por el organismo etiológico, la duración y la frecuencia de enfermedades infecciosas.

A. Inmunodeficiencias primarias

Las inmunodeficiencias primarias son un grupo heterogéneo de trastornos del sistema inmunitario. Muchas de estas enfermedades tienen un componente genético y se heredan como defectos monogénicos. En la actualidad se han identificado más de 150 patologías con componentes genéticos subyacentes. El defecto genético disminuye el funcionamiento y el número de linfocitos B, linfocitos T, fagocitos, componentes del complemento, citosinas o TLR. Es claro que la pérdida de estos elementos funcionales incrementa la susceptibilidad a infecciones. Un ejemplo es la enfermedad granulomatosa crónica (CGD, *chronic granulomatous disease*), un trastorno que altera el funcionamiento de los fagocitos. Los pacientes tienen niveles normales de inmunoglobulinas, fagocitos y linfocitos T y B. Las células fagocíticas, sin embargo, no matan microbios por un defecto genético en el citocromo *b*-558. Esto genera un desperfecto metabólico que impide que los fagocitos produzcan peróxido y superóxido, y puede identificarse usando la prueba de nitroazul de tetrazolio (NBT, *nitroblue tetrazolium*). Estas células son incapaces de matar algunos hongos o bacterias de forma eficiente, como *Staphylococcus, E. coli* y *Aspergillus* spp. A menos que se trate, la CGD por lo común es fatal en la primera década de la vida. Se ha demostrado que el IFN-γ restablece la función de los fagocitos. Por lo tanto, en la mayoría de los casos, la administración de IFN-γ o un trasplante de médula ósea son tratamientos eficaces. Un segundo ejemplo es la inmunodeficiencia combinada grave (SCID, *severe combined immunodeficiency*). Ahora se sabe que este síndrome es la expresión ulterior de muchos defectos genéticos diferentes que alteran el funcionamiento de los linfocitos T y de los B. Estos individuos son susceptibles a desarrollar infecciones por casi cualquier microbio y si no reciben tratamiento mueren en el primer año de vida.

B. Inmunodeficiencias secundarias

Las inmunodeficiencias secundarias son causa importante de infecciones. Los estados de inmunodeficiencia secundaria se relacionan con infecciones, cáncer y fármacos.

C. Infecciones

Las infecciones pueden suprimir la inmunidad del hospedador. Se sabe que los pacientes infectados por el EBV y que presentan mononucleosis tienen una respuesta cutánea de DTH deprimida para la TB y otros antígenos. La negatividad de esta prueba indica inhibición de la respuesta de los linfocitos T. Análisis de la replicación del EBV han revelado un mecanismo posible para esta inmunosupresión; el genoma del EBV codifica un análogo de la IL-10 humana, una citosina inmunosupresora que inhibe la proliferación de los linfocitos Th1 y en consecuencia la producción de citosinas, como el IFN-γ. Esto puede explicar los resultados negativos de una prueba cutánea de DTH.

El ejemplo más obvio de una inmunodeficiencia inducida por un virus es la infección por el **VIH** y la patología resultante, el sida. El VIH primero infecta a los linfocitos T $CD4^+$. Esto es posible debido a que el virus usa la molécula CD4 como receptor y al receptor de quimiocinas CCR5 como correceptor para entrar a la célula. La replicación del VIH en los linfocitos T $CD4^+$ provoca una pérdida progresiva de estas células y el desarrollo del sida. En consecuencia, los pacientes afectados son atacados por muchas infecciones oportunistas. Como se mencionó antes en este capítulo, los linfocitos T $CD4^+$ son fundamentales para generar poblaciones de células Th1, Th2, Th17 y T reg. Estos tipos celulares son necesarios para una variedad de reacciones inmunitarias, ayudan a los linfocitos B durante la producción de anticuerpos y sirven como fuente de IL-2 e IFN-γ. Por lo tanto, la replicación de un virus citotóxico en este tipo de células es devastador para la respuesta inmunitaria.

D. Cáncer

Leucemias, linfomas, mieloma múltiple y otros tipos de cáncer pueden provocar inmunodeficiencia y exacerbar las infecciones. Por ejemplo, los pacientes con leucemia pueden tener deficiencia de neutrófilos, lo cual reduce la capacidad de fagocitosis y favorece la proliferación de bacterias u hongos en sitios infectados. Algunos tumores secretan niveles altos de TGF-β capaces de suprimir una variedad de respuestas, incluyendo las de las células Th1.

E. Fármacos

Medicamentos citotóxicos utilizados para tratar cánceres (p. ej., el cisplatino), fármacos inmunosupresores (p. ej., la ciclosporina) que se emplean como antibióticos en pacientes con trasplantes y los nuevos medicamentos anticitosinas (anti-TNF-α) utilizados para tratar enfermedades autoinmunitarias (p. ej., RA) pueden aumentar el riesgo de desarrollar infecciones.

EXÁMENES DE LABORATORIO PARA ENFERMEDADES INMUNITARIAS (PRUEBAS DIAGNÓSTICAS)

Datos excitantes sobre biología molecular, proteínas y DNA recombinante, biología de las citosinas y genética humana han incrementado el conocimiento de las enfermedades inmunitarias. Con estos avances, han madurado y aumentado las aplicaciones de los análisis de laboratorio relacionados con trastornos inmunitarios. Por lo tanto, el objetivo de estos estudios ahora se extiende a una gran variedad de disciplinas como el trasplante de órganos, la reumatología, la oncología, la dermatología, la infectología, la alergología y la inmunología. El objetivo de estas pruebas es sustentar los diagnósticos y la monitorización de pacientes con trastornos inmunitarios. Ahora se utilizan muchas tecnologías para valorar aspectos de los anticuerpos y los componentes celulares de la respuesta inmunitaria. En el artículo de Detrick *et al.* (2015) se muestra una revisión extensa de los sistemas de valoración que se utilizan en la actualidad en ambientes nosocomiales. A continuación se describen ensayos de interés.

Ensayos para la evaluación de anticuerpos

A. Prueba de inmunoadsorbente ligado a enzimas

El enzimoinmunoanálisis (**EIA**, *enzyme immunoassay*) es una de las pruebas de laboratorio más populares para monitorizar una variedad de especificidades de anticuerpos. Este método depende de la conjugación de una enzima con un anticuerpo.

La enzima se detecta buscando la actividad enzimática con su sustrato. Para medir la concentración de anticuerpos, se adhieren antígenos conocidos a una fase sólida (p. ej., una placa de plástico microtitulada) que se incuba con diluciones de anticuerpos, se lava y se incuba de nuevo con una antiinmunoglobulina marcada con una enzima (p. ej., peroxidasa de *Armoracia rusticana* [rábano picante]). La enzima conjugada a la fracción de detección produce color cuando se agrega el sustrato específico. Entre más antígenos se unan a los anticuerpos, mayor será la concentración de enzima y la tinción será más notable. En consecuencia, la intensidad de color generada es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos adheridos. Esta prueba serológica se utiliza para detectar anticuerpos en un gran número de enfermedades infecciosas, como anticuerpos contra proteínas del VIH en muestras de sangre o anticuerpos contra *Treponema pallidum*, el organismo causante de la sífilis. Este ensayo se usa con frecuencia para detectar autoanticuerpos presentes en la circulación de pacientes con enfermedades autoinmunitarias sistémicas o de órganos específicos (p. ej., anticuerpos en pacientes con lupus eritematoso sistémico, escleroderma y el síndrome de Sjögren). La prueba tradicional de inmunoadsorbente ligado a enzimas tiene algunas variaciones nuevas, como el ensayo de quimioluminiscencia (CIA, *chemiluminescence assay*) y los análisis múltiplex basados en partículas.

B. Inmunofluorescencia

Cuando un anticuerpo es marcado con un tinte fluorescente (p. ej., fluoresceína o rodamina), es posible observar su presencia utilizando luz ultravioleta en un microscopio de fluorescencia. Este sistema puede ser directo o indirecto. En el **ensayo de fluorescencia directa**, se marca un anticuerpo específico conocido con un tinte fluorescente. Se agrega una muestra con organismos desconocidos a un portaobjetos y se incuba con el anticuerpo específico marcado con fluoresceína (p. ej., anticuerpo contra estreptococos). Después se lava la muestra y se analiza con un microscopio de fluorescencia. Si la muestra contiene estreptococos, se observará fluorescencia de color verde. En los **ensayos de fluorescencia indirecta** se utiliza un procedimiento de dos pasos para detectar la presencia de anticuerpos específicos para organismos determinados (como anticuerpos contra treponema) en una muestra de suero. Primero se coloca un antígeno conocido (treponema) en un portaobjetos, el cual se incuba con una muestra de suero. Después se remueve la muestra, se lava la laminilla y se agrega una segunda anti-inmunoglobulina macada con fluoresceína. A continuación se lava el portaobjetos y se examina con un microscopio de fluorescencia. Si el suero del paciente contenía anticuerpos contra treponema, el organismo se verá de color verde. Este ensayo se ha utilizado para detectar anticuerpos contra ciertos organismos (p. ej., *T. pallidum*) y es el procedimiento estándar para identificar autoanticuerpos en pacientes con enfermedades autoinmunitarias (p. ej., anticuerpos antinucleares).

C. Inmunotransferencia Western

La inmunotransferencia Western se utiliza para identificar un antígeno en una mezcla compleja de proteínas. Ésta (p. ej., microorganismos) se analiza mediante el método de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE, *polyacrylamide gel electrophoresis*)-dodecilsulfato de sodio (SDS, *sodium dodecyl sulfate*). Con este procedimiento se separan las proteínas en un gel según su carga y su peso molecular. Después se cubre el gel con una membrana (por ejemplo de nitrocelulosa) para transferir las proteínas a ella. La membrana, que ahora contiene las proteínas separadas, se incuba con una muestra de suero. Si éste contiene un anticuerpo específico que reacciona con una proteína de la membrana, el anticuerpo permanecerá en la nitrocelulosa. A continuación se incuba la membrana con una antiinmunoglobulina marcada con una enzima. Después se lava la membrana y se incuba nuevamente con el sustrato de la enzima. La mezcla que contiene la enzima y su sustrato permite la detección colorimétrica. El complejo antígeno-anticuerpo es visible como una banda separada. Este método se utiliza mucho como prueba secundaria para diagnosticar la enfermedad de Lyme y detectar al HCV. En la actualidad esta tecnología se aplica para identificar autoanticuerpos en enfermedades autoinmunitarias específicas (p. ej., polimiositis). Algunas variaciones de este método son los ensayos de hibridación *dot* o *slot blot*, los cuales utilizan antígenos purificados que se adhieren a una membrana de nitrocelulosa.

D. Otros estudios de laboratorio

Otros estudios de laboratorio a menudo disponibles son la electroforesis de proteínas y la electroforesis por inmunofijación, exámenes esenciales para identificar la producción irregular de inmunoglobulinas en el suero o la orina de pacientes con mieloma. La nefelometría es otra prueba de laboratorio que cuantifica una amplia variedad de análitos en el suero o en el plasma. Éste es el método de elección para cuantificar los componentes del complemento, las inmunoglobulinas y otros analitos séricos. Estos ensayos también se utilizan para valorar otras irregularidades relacionadas con estas infecciones específicas (p. ej., el HCV puede relacionarse con una proteína monoclonal y la presencia de crioglobulinas).

Evaluación de respuestas celulares

A. Citometría de flujo

La citometría de flujo es un método basado en láser que se utiliza para analizar células y sus componentes particulares. Una de las aplicaciones más populares de este método es la determinación del inmunofenotipo de poblaciones celulares. En este método se hacen fluir suspensiones con una sola célula a través de una celda de flujo en la que las células pasan por un láser y son detectadas por la luz que dispersan. Si las células también contienen moléculas fluorescentes, esto se revelará. La luz dispersada y la fluorescencia se registran y analizan para identificar subpoblaciones en la muestra. Es relativamente fácil separar las células en clases mayores; los linfocitos, que son pequeños, se aíslan de los granulocitos, que son más grandes y contienen más gránulos (y que por lo tanto disipan más la luz).

Una segunda manera de analizar estas células es evaluar moléculas de su superficie marcadas con tintes fluorescentes. Se usa la nomenclatura de los conglomerados de diferenciación (CD). En la actualidad se han identificado más de 300 CD. Hay disponibles anticuerpos monoclonales dirigidos contra CD que

pueden etiquetarse con marcas fluorescentes. La incubación de células con una variedad de anticuerpos contra CD marcados permite el análisis de distintas poblaciones de células en una muestra mediante citometría de flujo. Al utilizar este método es posible identificar células CD4, CD8, linfocitos B, macrófagos y células que expresan una variedad de citosinas. Esta tecnología se utiliza con frecuencia en laboratorios clínicos y en la investigación biomédica (p. ej., para cuantificar linfocitos T CD4$^+$ en pacientes VIH positivos o para distinguir células cancerígenas de leucocitos normales).

B. Ensayos de función celular

Para evaluar el funcionamiento de los linfocitos T *in vitro*, se analiza la capacidad de las células para proliferar o producir citosinas específicas, como el IFN-γ. Este ensayo es la contraparte *in vitro* de las reacciones de hipersensibilidad tipo IV, donde se utilizan las pruebas cutáneas para TB como modelo. En la piel, el antígeno contra TB administrado interactúa con linfocitos T específicos y los hace proliferar, producir IFN-γ y generar una reacción positiva. En este ensayo *in vitro*, se incuban leucocitos de sangre periférica (PBL, *peripheral blood leukocytes*) con un antígeno específico durante 24 a 72 h. Cuando los linfocitos T sensibilizados de manera específica interactúan con su antígeno particular (p. ej., antígeno contra TB), proliferan y producen IFN-γ. La proliferación se mide por la incorporación de timidina H^3 o por la monitorización de IFN-γ mediante EIA o citometría de flujo. Este ensayo se utiliza también para valorar el estado inmunitario de un individuo, en particular de pacientes inmunocomprometidos por una enfermedad infecciosa, un proceso cancerígeno o terapia farmacológica.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La **inmunidad innata** es una respuesta inmediata y no específica contra un patógeno. Los componentes de esta reacción son los fagocitos (macrófagos y neutrófilos), los linfocitos NK, los TLR, las citosinas y el sistema del complemento.
- La **fagocitosis** es una respuesta inmunitaria que detecta y destruye patógenos. El proceso incluye los siguientes pasos: quimiotaxia, migración, ingestión y eliminación de microbios.
- La **inmunidad adaptativa** es un proceso de la respuesta inmunitaria que tiene una elevada especificidad, memoria inmunológica y responde con rapidez y de forma contundente a una exposición secundaria a antígenos. Involucra respuestas inmunitarias mediadas por células o anticuerpos.
- La **presentación de antígenos** es un proceso fundamental de la inmunidad adaptativa. Proteínas de antígenos exógenos son procesadas por las APC y después son expuestas en la superficie celular en complejos MHC clase II-péptido. Éstos son reconocidos por TCR localizados en linfocitos T CD4$^+$. La molécula CD4 actúa como correceptor. Es necesaria una segunda señal para la activación de los linfocitos T, que deriva de la interacción entre el CD80 de la APC y el CD28 del linfocito T; éstos proliferan y se diferencian en linfocitos T efectores. Los antígenos endógenos son procesados por las APC mediante complejos MHC clase I-péptido. Éstos son reconocidos por TCR de linfocitos T CD8$^+$.
- **Producción de anticuerpos:** los linfocitos B reordenan sus genes de inmunoglobulinas y expresan un receptor de antígenos (BCR). Cuando el antígeno interactúa con el BCR, se estimula la división del linfocito B para que forme un clon. El linfocito B se transforma en un plasmocito secretor de anticuerpos o en un linfocito B de memoria.
- **Funciones de los anticuerpos:** un anticuerpo tiene diversas funciones protectoras. Puede potenciar la fagocitosis, inducir la neutralización de virus y toxinas bacterianas y participar en la lisis mediada por el complemento y la ADCC.
- **Funciones de los linfocitos T:** 1) Los linfocitos T CD4$^+$ pueden transformarse en células Th1, Th2, Th17 y T reg. Las primeras producen citosinas (IL-2 e IFN-γ), activan macrófagos o promueven que los linfocitos B produzcan IgG. Los linfocitos Th2 activan a los mastocitos y a los eosinófilos, y promueven que los linfocitos B produzcan IgE. Los linfocitos Th17 producen IL-17, la cual induce la formación de IL-8 y el reclutamiento de neutrófilos y macrófagos. Los linfocitos T reg producen TGF-β e IL-10, moléculas que suprimen respuestas inmunitarias y 2) los linfocitos T CD8$^+$ funcionan como linfocitos T citotóxicos.
- **Sistema del complemento:** hay tres vías principales para la activación del **complemento**: la clásica, la alternativa y la de la lectina fijadora de manosa. Cada una de ellas resulta en la formación del MAC, que se encarga de la lisis de células. El complemento proporciona protección contra patógenos mediante cuatro mecanismos: 1) citólisis, 2) quimiotaxia, 3) opsonización y 4) vasodilatación y permeabilidad vascular.
- Las **citosinas** son potentes moléculas de bajo peso molecular que regulan el comportamiento celular. Las producen numerosas células de forma transitoria y local, como los macrófagos, las células dendríticas y los linfocitos NK, T y B. Los IFN son potentes moléculas inmunorreguladoras que actúan contra los virus.
- **Reacciones de hipersensibilidad:**
  - **Tipo I, inmediata:** el alérgeno induce la producción de IgE, que se unen a los mastocitos y a los eosinófilos a través de los receptores de la porción Fc. Después una segunda exposición a un antígeno, la IgE fija forma puentes cruzados, lo cual induce la liberación de los mediadores contenidos en los gránulos, en especial histamina.
  - **Tipo II:** antígenos de una superficie celular se combinan con anticuerpos, lo cual induce lisis mediada por el complemento (p. ej., en transfusiones o reacciones por el factor Rh) u otro daño citotóxico de la membrana (p. ej., anemia hemolítica autoinmunitaria).
  - **Tipo III, complejo inmunitario:** complejos inmunitarios antígeno-anticuerpo se depositan en los tejidos, se activa el complemento y se atraen linfocitos PMN al sitio, que provocan daño hístico.
  - **Tipo IV, tardía:** es una reacción mediada por los linfocitos T, en la cual estas células son sensibilizadas

por un antígeno y liberan citosinas cuando ocurre un segundo contacto con el mismo antígeno. Las citosinas inducen inflamación y activan los macrófagos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. La clase de inmunoglobulina que con mayor frecuencia inhibe bacterias presentes en superficies mucosas es:
   (A) IgG
   (B) IgM
   (C) IgA
   (D) IgE
   (E) IgD
2. En la respuesta inmunitaria innata, ¿qué células participan en la fagocitosis?
   (A) Macrófagos y mastocitos
   (B) Macrófagos y plasmocitos
   (C) Linfocitos NK y neutrófilos
   (D) Macrófagos y neutrófilos
   (E) Linfocitos T y mastocitos
3. ¿Cuál de las siguientes citosinas atrae neutrófilos e inhibe bacterias?
   (A) IFN-γ
   (B) IL-8
   (C) IL-2
   (D) IL-6
   (E) TGF-β
4. ¿Las moléculas de MHC clase II son fundamentales para cuál de los siguientes procesos inmunológicos?
   (A) Presentación de antígenos
   (B) Fagocitosis
   (C) Cambio de la clase de inmunoglobulina
   (D) Citotoxicidad de los linfocitos T $CD8^+$
   (E) Opsonización
5. ¿Las moléculas de MHC clase I son fundamentales para cuál de los siguientes procesos inmunológicos?
   (A) Liberación de histamina mediada por IgE
   (B) Fagocitosis
   (C) Cambio de la clase de inmunoglobulina
   (D) Citotoxicidad de los linfocitos T $CD8^+$
   (E) Opsonización
6. ¿La respuesta del hospedador a la interacción entre un patógeno y su TLR especifico genera cuál de los siguientes eventos?
   (A) Producción de IgG
   (B) Activación de células y producción de citosinas y quimiocinas
   (C) Cambio de la clase de inmunoglobulina
   (D) Fagocitosis
   (E) Presentación de patógenos a los linfocitos T cooperadores
7. En la respuesta inmunitaria innata, ¿qué célula mata a células infectadas por virus?
   (A) Linfocito T
   (B) Linfocito NK
   (C) Macrófago
   (D) Neutrófilo
   (E) Linfocito B
8. ¿La interacción entre dos moléculas de IgG que se unen a un antígeno, seguida de la unión de C1 a la porción Fc del anticuerpo resulta en cuál de los siguientes eventos?
   (A) Inicio de la presentación de antígenos
   (B) Inicio de la vía clásica del complemento
   (C) Inicio de la vía alternativa del complemento
   (D) Inicio de la vía de la lectina fijadora de manosa
9. ¿Cuál de las siguientes opciones es una característica de la respuesta inmunitaria adaptativa y no de la respuesta innata?
   (A) Barreras físicas
   (B) Barreras químicas
   (C) Expansión clonal de células efectoras
   (D) Mediadores inflamatorios
   (E) Fagocitosis
10. ¿Cuál de los siguientes mecanismos genéticos genera anticuerpos de la misma especificidad pero de diferente clase?
   (A) Recombinación del segmento génico V
   (B) Cambio de clase
   (C) Hipermutación somática
   (D) Variabilidad debida a unión imprecisa de V, D y J
   (E) Duplicación de genes, p. ej., múltiples segmentos de los genes V, D y J
11. ¿Qué anticuerpo tiene la capacidad de cruzar la placenta?
   (A) IgG
   (B) IgA
   (C) IgM
   (D) IgE
   (E) IgD
12. Un varón en la segunda década de la vida se presenta al servicio de urgencias con disnea y fatiga. Dos días antes se le administró penicilina para tratar una infección. Antes había recibido este fármaco sin complicaciones y refirió no ser alérgico a la penicilina. Los exámenes de laboratorio muestran que hay anticuerpos contra la penicilina en el suero del paciente que están lisando sus propios eritrocitos. Se le diagnostica anemia hemolítica inmunitaria. ¿Qué tipo de reacción de hipersensibilidad presenta el paciente?
   (A) Tipo I
   (B) Tipo II
   (C) Tipo III
   (D) Tipo IV (DTH)
13. ¿Cuál de las siguientes células expresa receptores de IgE en su superficie, que estimulan una respuesta contra gusanos parasitarios?
   (A) Linfocito T
   (B) Linfocito B
   (C) Linfocito NK
   (D) Mastocito
   (E) Célula dendrítica
14. Los linfocitos NK expresan receptores similares a inmunoglobulina de linfocitos citolíticos (KIR), que reconocen a:
   (A) Moléculas de MHC clase I
   (B) Moléculas de adhesión celular
   (C) Glucofosfolípidos
   (D) moléculas CD40
15. ¿Antes del cambio de clase, todos los linfocitos B unidos a antígenos tienen cuál de las siguientes clases de anticuerpos en su superficie?
   (A) IgA
   (B) IgG
   (C) IgM
   (D) IgE
16. ¿La liberación de histamina mediada por IgE se clasifica como qué tipo de reacción de hipersensibilidad?
   (A) Tipo I
   (B) Tipo II

(C) Tipo III
(D) Tipo IV

17. ¿Una célula infectada produce los interferones α y β por la interacción del ácido nucleico del virus con cuál de las siguientes moléculas?
(A) C3 (tercer componente del complemento)
(B) Defensinas
(C) Vía de los TLR
(D) IL-12

18. ¿Qué citosinas tienen funciones importantes en la atracción de neutrófilos al sitio de una infección?
(A) IFN-α e IFN-γ
(B) IL-8 e IL-17
(C) IL-2 e IL-4
(D) IL-6 e IL-12

19. ¿Cuál de los siguientes ensayos de laboratorio se considera contraparte *in vitro* de las reacciones de hipersensibilidad tipo IV observadas en las pruebas cutáneas para TB?
(A) Inmunotransferencia Western para el antígeno TB
(B) Análisis EIA del suero de un paciente con TB
(C) Ensayo de inmunofluorescencia para el anticuerpo TB
(D) Producción de IFN-γ por parte de leucocitos tratados con el antígeno TB

20. ¿Cuál de los siguientes estudios de laboratorio puede utilizarse para detectar el número y los tipos de células inmunitarias en muestras de sangre periférica?
(A) Electroforesis por inmunofijación
(B) EIA
(C) Citometría de flujo
(D) Inmunotransferencia Western

Respuestas

1. C	6. B	11. A	16. A
2. D	7. B	12. B	17. C
3. B	8. B	13. D	18. B
4. A	9. C	14. A	19. D
5. D	10. B	15. C	20. C

BIBLIOGRAFÍA

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S: *Cellular and Molecular Immunology*, 8a. ed. Saunders Elsevier, 2014.
Detrick B, Schmitz J, Hamilton RG: *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, 8a. ed. ASM Press, 2015.
Murphy K, Travers P, Wolport M: *Janeway's Immunobiology*, 8a. ed. Garland Science, 2012.
Nairn R, Helbert M: *Immunology for Medical Students*, 2a. ed. Mosby/Elsevier, 2007.
O'Gorman MRG, Donnenberg AD: *Handbook of Human Immunology*, 2a. ed. CRC Press, 2008.
Paul WE (editor): *Fundamental Immunology*, 7a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

CAPÍTULO 9

Patogenia de la infección bacteriana

La patogenia de la infección bacteriana comprende el comienzo del proceso infeccioso y los mecanismos que provocan la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad. En este capítulo se describen los factores bioquímicos, estructurales y genéticos que contribuyen más a la patogenia bacteriana, pero también se pueden consultar en las secciones sobre cada microorganismo. Algunas de las características de las bacterias patógenas son transmisibilidad, adhesión a las células hospedadoras, persistencia, invasión de las células y tejidos hospedadores, toxigenicidad y capacidad para evadir o sobrevivir al sistema inmunitario del hospedador. La resistencia a los antimicrobianos y desinfectantes también contribuye a la **virulencia**, o a la capacidad que tiene cada microorganismo para producir una enfermedad. Muchas infecciones producidas por bacterias que suelen considerarse patógenas permanecen ocultas o son asintomáticas. La enfermedad ocurre cuando la bacteria o las reacciones inmunitarias que se desencadenan por su presencia dañan lo suficiente a la persona.

Los términos que se utilizan con frecuencia para describir una serie de aspectos de la patogenia se definen en el glosario (véase más adelante). Consúltese el glosario del capítulo 8 para obtener definiciones de los términos utilizados en inmunología y para describir los aspectos relacionados con la respuesta del hospedador ante la infección.

GLOSARIO

Adhesión (adherencia, unión): proceso por medio del cual las bacterias se unen a las superficies de las células hospedadoras. Una vez que las bacterias penetran en el organismo, el paso principal en la evolución de la infección es la adhesión. Los términos *adherencia*, *adhesión* y *unión* se utilizan en forma indistinta.

Portador: persona o animal con una infección asintomática que puede transmitir a otra persona o animal susceptible.

Infección: multiplicación de un microorganismo infeccioso dentro del organismo. La multiplicación de las bacterias que forman parte de la microbiota normal del tubo digestivo, piel, etc., no suele considerarse infección; por otro lado, la multiplicación de las bacterias patógenas (p. ej., especies de *Salmonella*), incluso cuando la persona se encuentra asintomática, se considera infección.

Invasión: proceso a través del cual las bacterias, parásitos animales, hongos y virus penetran en las células o tejidos del hospedador y se diseminan dentro del organismo.

Microbiota: flora microbiana que habita en las personas sanas.

No patógenos: un microorganismo que no es patógeno también puede formar parte de la microbiota normal.

Patógeno oportunista: microorganismo con el potencial de producir una enfermedad sólo cuando la resistencia del hospedador es deficiente (p. ej., cuando el paciente se encuentra "inmunodeprimido").

Patógeno: microorganismo que puede causar una enfermedad.

Patogenicidad: potencial de un microorganismo infeccioso de producir una enfermedad (véase también virulencia).

Superantígenos: toxinas formadas por proteínas que activan el sistema inmunitario fijándose al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*) y los receptores de linfocitos T (TCR, *T-cell receptors*) y que estimulan a un gran número de linfocitos T para que produzcan cantidades masivas de citocinas.

apter 09_Carroll_4R.indd 153 14/04/16

Toxigenicidad: potencial de un microorganismo de producir una toxina que contribuye a la enfermedad.

Virulencia: potencial cuantitativo de un microorganismo de producir una enfermedad. Los microorganismos virulentos generan la enfermedad cuando un pequeño número se introduce en el organismo. La virulencia abarca adhesión, persistencia, invasión y toxigenicidad (véase antes).

IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS QUE CAUSAN ENFERMEDADES

Los seres humanos y los animales poseen una **microbiota** normal abundante que no suele generar enfermedades (capítulo 10), pero que logra un equilibrio que garantiza la supervivencia, el crecimiento y la propagación tanto de las bacterias como del hospedador. Algunas bacterias que son causas importantes de diversas enfermedades se obtienen con el cultivo de la microbiota normal (p. ej., *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus*). Algunas veces existen bacterias que son claramente patógenas (p. ej., el serotipo Typhy de la *Salmonella*), pero la infección permanece latente o subclínica y el hospedador es un "portador" de la bacteria.

Otras veces es difícil demostrar que una especie bacteriana específica constituye la causa de determinada enfermedad. En 1884, Robert Koch propuso una serie de postulados que se han aplicado de manera extensa con el fin de vincular una serie de especies de bacterias con determinadas enfermedades. En el cuadro 9-1 se resumen los **postulados de Koch**.

Los postulados de Koch siguen siendo un pilar de la microbiología; sin embargo, desde finales del siglo XIX, se ha demostrado que muchos microorganismos que no satisfacen los criterios de estos postulados también causan enfermedades. Por ejemplo, *Treponema pallidum* (sífilis) y *Mycobacterium leprae* (lepra) no se pueden cultivar *in vitro*; no obstante, existen modelos animales de infección con estos microorganismos. Otro ejemplo es la infección por *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea) aunque la bacteria se puede cultivar con facilidad *in vitro*; también se ha producido infección experimental en seres humanos, que sustituye al modelo animal.

En otros casos, los postulados de Koch se han cumplido cuando menos parcialmente al demostrar patogenicidad bacteriana en un modelo de infección *in vitro* en lugar de un modelo animal. Por ejemplo, algunas variedades de diarrea inducida por *Escherichia coli* (capítulo 15) se han definido por la interacción del *E. coli* con células del hospedador en cultivo.

Al investigar a determinado microorganismo como posible causa de una enfermedad, también es importante tomar en consideración las respuestas inmunitarias del hospedador. Por consiguiente, la elevación de un anticuerpo específico durante la recuperación de una enfermedad, constituye un complemento importante de los postulados de Koch.

La genética microbiana moderna ha abierto nuevas fronteras para estudiar a las bacterias patógenas y distinguirlas de las no patógenas. La clonación molecular ha permitido a los investigadores aislar y modificar genes específicos de virulencia y estudiarlos con modelos de infección. Gracias al estudio de los genes vinculados con la virulencia se han propuesto los **postulados moleculares de Koch**. Estos postulados se resumen en el cuadro 9-1.

Algunos microorganismos patógenos son difíciles o imposibles de cultivar y por esta razón no es posible establecer la causa de la enfermedad que generan por medio de los postulados

CUADRO 9-1 Postulados para establecer las causas de las infecciones

Postulados de Koch	Postulados moleculares de Koch	Postulados moleculares para establecer la causa microbiana de una enfermedad
1. El microorganismo se debe encontrar en todos los casos de la enfermedad en cuestión y su distribución en el organismo debe concordar con las lesiones observadas. 2. El microorganismo se debe cultivar *in vitro* (o fuera del cuerpo del hospedador) durante varias generaciones. 3. Cuando este tipo de cultivo puro se inocula en un animal susceptible, debe causar la enfermedad típica. 4. El microorganismo se debe aislar de nuevo a partir de las lesiones de las enfermedades producidas en forma experimental.	1. El fenotipo o propiedad investigada debe tener una relación estrecha con las cepas patógenas de la especie y no con las cepas no patógenas. 2. La inactivación específica del gen o genes vinculados con el rasgo de virulencia sospechado debe provocar una reducción medible de la patogenicidad o virulencia. 3. La inversión o sustitución del gen mutado con un gen natural debe restablecer la patogenicidad o virulencia.	1. En la mayoría de los casos de una infección debe existir una secuencia de ácidos nucleicos del supuesto microorganismo patógeno y de preferencia en los sitios anatómicos donde son evidentes los datos patológicos. 2. En la mayoría de los testigos sanos que participan, no debe haber secuencia de ácidos nucleicos del supuesto patógeno. Si se identifica la secuencia en controles sanos, su prevalencia debe ser menor que en los pacientes con la infección y con un menor número de copias. 3. El número de copias de la secuencia de ácido nucleico del supuesto microorganismo patógeno debe disminuir o ser indetectable una vez que se resuelve la enfermedad (p. ej., con tratamiento efectivo) y debe aumentar cuando la infección recurre o se produce una recaída. 4. La presencia de una secuencia de ácidos nucleicos vinculada a un microorganismo patógeno en personas sanas debe ayudar a pronosticar el desarrollo ulterior de la enfermedad. 5. La naturaleza del microorganismo patógeno inferida a partir del análisis de la secuencia de ácidos nucleicos debe concordar con las características biológicas conocidas de otros microorganismos afines y con la naturaleza de la enfermedad. La importancia de una secuencia microbiana detectada aumenta cuando el genotipo microbiano pronostica la morfología microbiana, patología, características clínicas de la enfermedad y respuesta del hospedador.

de Koch o los postulados moleculares de Koch. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) se utiliza para amplificar las secuencias de ácidos nucleicos específicas de cada microorganismo a partir de los tejidos o líquidos del hospedador. Estas secuencias se utilizan para identificar a los microorganismos causales. En el cuadro 9-1 se enumeran los postulados moleculares para establecer la causa de una enfermedad microbiana. Este método se ha utilizado para establecer la causa de diversas enfermedades como la enfermedad de Whipple (*Tropheryma whipplei*), angiomatosis bacilar (*Bartonella henselae*), ehrlichiosis monocítica humana (*Ehrlichia chaffeensis*), síndrome pulmonar por hantavirus (virus Sin Nombre) y sarcoma de Kaposi (herpesvirus humano 8).

El análisis de la infección y la enfermedad aplicando una serie de normas como los postulados de Koch, permite clasificar a las bacterias en patógenas, patógenas oportunistas o no patógenas. Algunas especies de bacterias siempre se consideran patógenas y su presencia es anormal; dos ejemplos de esto son *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis) y *Yersinia pestis* (peste). Estas bacterias cumplen con facilidad los postulados de Koch. Otras especies que a menudo forman parte de la microbiota normal de los seres humanos (y animales) también producen enfermedades con frecuencia. Por ejemplo, *E. coli* forma parte de la microbiota digestiva de los seres humanos sanos, pero también constituye una causa frecuente de infecciones urinarias, diarrea del turista y otras enfermedades. Las cepas de *E. coli* que causan enfermedades se distinguen de las que no lo hacen al establecer: 1) si son virulentas en modelos animales o modelos *in vitro* y 2) si tienen una composición genética ligada a la generación de enfermedades. Otras bacterias (p. ej., especies de *Pseudomonas, Stenotrophomonas maltophilia* y levaduras y mohos) sólo causan enfermedad en personas inmunodeprimidas y débiles, por lo que son **patógenos oportunistas**.

TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN

Las bacterias (y otros microorganismos) se adaptan a diversos ambientes que comprenden fuentes externas como tierra, agua y materia orgánica o fuentes internas encontradas dentro de los insectos vectores, animales y seres humanos, donde por lo general habitan y subsisten. Al hacerlo, las bacterias aseguran su supervivencia y aumentan la probabilidad de transmisión. Al producir una infección asintomática o enfermedad leve, en lugar de la muerte del hospedador, los microorganismos que habitan normalmente en las personas aumentan la probabilidad de transmisión de una persona a otra.

Algunas bacterias que con frecuencia causan enfermedades en los seres humanos, existen principalmente en animales e infectan de manera incidental al ser humano. Por ejemplo, algunas especies de *Salmonella* y *Campylobacter* infectan a los animales y son transmitidas en productos alimenticios al ser humano. Otras bacterias generan infecciones en los seres humanos de manera involuntaria, un error en el ciclo vital normal del microorganismo; éstos no se han adaptado a las personas y la enfermedad que generan en ocasiones es grave. Por ejemplo, *Y. pestis* (peste) tiene un ciclo vital bien establecido en los roedores y pulgas de roedores y su transmisión a través de las pulgas a los seres humanos es involuntaria; *Bacillus anthracis* (carbunco) vive en el medio ambiente; en ocasiones infecta a los animales y se transmite a los seres humanos a través de ciertos productos como pelo natural de animales infectados. Las especies de *Clostridium* se encuentran en el medio ambiente y se transmiten al ser humano a través de su ingestión (p. ej., gastroenteritis por *C. perfringens* y *C. botulinum* [botulismo]) o cuando las heridas se contaminan con tierra (p. ej., *C. perfringens* [gangrena gaseosa] y *C. tetani* [tétanos]). Tanto *Bacillus anthracis* como las especies de *Clostridium*, elaboran esporas para proteger el ácido nucleico del microorganismo de diversos factores ambientales nocivos como la luz ultravioleta, la desecación, los detergentes químicos y los pH extremos. Estas esporas garantizan la supervivencia en ambientes externos, incluidos los alimentos que ingiere el ser humano. Después de ser ingeridas o inoculadas, las esporas germinan para formar una estructura vegetativa y metabólicamente activa del microorganismo patógeno.

Las manifestaciones clínicas de las enfermedades (p. ej., diarrea, tos, secreción genital) producidas por los microorganismos, a menudo facilitan su transmisión. Algunos ejemplos de síndromes clínicos y la manera como facilitan la transmisión de la bacteria causal son los siguientes: *Vibrio cholerae* provoca diarrea abundante que contamina el agua salada y el agua dulce; el agua potable o los mariscos como ostiones y cangrejos también se contaminan; al consumir agua o mariscos contaminados la persona se infecta y enferma. Asimismo, la contaminación de los productos alimenticios con aguas residuales que contienen *E. coli* que provoca diarrea, tiene como resultado la transmisión de las bacterias. *M. tuberculosis* (tuberculosis) infecta de manera natural sólo al ser humano; causa una enfermedad respiratoria con tos y producción de aerosoles, lo que provoca la transmisión de la bacteria de persona a persona.

Muchas bacterias se transmiten de persona a persona a través de las manos. El individuo con *S. aureus* en las narinas se frota la nariz, recoge los estafilococos en las manos y disemina las bacterias hacia otras partes del cuerpo o a otra persona, donde genera una infección. Muchos microorganismos patógenos oportunistas que causan infecciones hospitalarias se transmiten de un paciente a otro a través de las manos del personal que trabaja en el hospital. Por lo tanto, el hecho de lavarse las manos constituye un componente importante en el control de infecciones.

Las **vías de entrada de bacterias patógenas** al cuerpo más frecuentes son los sitios donde las mucosas se unen con la piel, p. ej., aparato respiratorio (vías respiratorias superiores e inferiores), tubo digestivo (principalmente la boca), aparato genital y urinario. Las áreas anormales de mucosas y piel (p. ej., laceraciones, quemaduras y otras lesiones) también constituyen sitios frecuentes de entrada. La piel y mucosas íntegras proporcionan la defensa principal contra la infección. Para producir una enfermedad, los microorganismos patógenos deben vencer estas barreras.

PROCESO INFECCIOSO

En el organismo, la mayor parte de las bacterias que generan enfermedades lo hacen al adherirse a las células del hospedador,

que casi siempre son epiteliales. Una vez que las bacterias han establecido un sitio primario de infección, se multiplican y diseminan directamente a través de los tejidos o por el sistema linfático hasta el torrente sanguíneo. Esta infección (bacteriemia) puede ser transitoria o persistente. La bacteriemia permite la diseminación de las bacterias en el organismo hasta llegar a los tejidos que son en especial adecuados para su multiplicación.

Un ejemplo del proceso infeccioso es la neumonía neumocócica. Es posible aislar *S. penumoniae* a partir de la nasofaringe de 5 a 40% de las personas sanas. En ocasiones, se aspiran neumococos desde la nasofaringe hacia los pulmones; esta aspiración es más frecuente en individuos debilitados y en determinadas circunstancias como el coma, cuando los reflejos normales del vómito y la tos se encuentran atenuados. La infección empieza en los espacios aéreos terminales de los pulmones, en personas que carecen de anticuerpos protectores contra el polisacárido capsular. La multiplicación de los neumococos con la inflamación resultante genera neumonía. Los neumococos penetran en los linfáticos de los pulmones y de ahí pasan al torrente sanguíneo. Entre 10 y 20% de las personas con neumonía neumocócica manifiesta bacteriemia en el momento en el que se establece el diagnóstico. Cuando se produce la bacteriemia, los neumococos pueden diseminarse a sitios secundarios (p. ej., líquido cefalorraquídeo, válvulas cardiacas y espacios articulares). Las complicaciones principales de la neumonía neumocócica son meningitis, artritis séptica y rara vez endocarditis.

En el cólera, el proceso infeccioso comprende la ingestión de *V. cholerae,* la quimiotaxia de la bacteria hacia el epitelio intestinal, su movilidad por medio de un solo flagelo polar y su penetración a la capa mucosa de la superficie intestinal. La adhesión de *V. cholerae* a las células epiteliales es controlada por pilosidades y quizá otras adhesinas. La producción de la toxina del cólera provoca la salida de cloruro y agua hacia la luz intestinal, lo que genera diarrea y desequilibrio electrolítico.

GENÓMICA Y PATOGENICIDAD BACTERIANA

Las bacterias son haploides (capítulo 7) y tienen interacciones genéticas limitadas que pueden cambiar sus cromosomas y posiblemente modificar su adaptación y supervivencia a determinados entornos ambientales. Un resultado importante de la conservación de los genes cromosómicos en las bacterias es que son clonales. Muchos de los microorganismos patógenos tienen unos cuantos tipos clonales diseminados en el mundo durante determinado periodo. Por ejemplo, la meningitis meningocócica epidémica del serogrupo A existe en Asia, Medio Oriente y África, y en ocasiones se extiende hasta el norte de Europa y América. En diversas ocasiones, a lo largo de varias décadas, se ha observado un solo tipo clonal de *Neisseria meningitidis* serogrupo A en un área geográfica que se extiende posteriormente hacia otras y de esta manera genera una epidemia. Existen dos tipos clonales de *Bordetella pertussis* y ambos son patógenos. Sin embargo, existen mecanismos que las bacterias utilizan o han utilizado durante largo tiempo en el pasado, para transmitir genes de virulencia de una a otra.

Elementos genéticos móviles

Algunos de los mecanismos principales para el intercambio de información genética entre las bacterias son la transformación natural y los elementos genéticos móviles transmisibles como plásmidos, transposones y bacteriófagos (a menudo llamados "fagos"). La transformación ocurre cuando el ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*) de un microorganismo es liberado en el ambiente y tomado por otro microorganismo que lo puede reconocer y fijar a él. En otros casos, los genes que codifican muchos factores de virulencia bacteriana son transportados en los plásmidos, transposones o fagos. Los plásmidos son fragmentos extracromosómicos de DNA con potencial para multiplicarse. Los transposones son segmentos altamente móviles de DNA que se desplazan de una parte de éste a otra. El resultado es la recombinación entre el DNA extracromosómico y el cromosómico (recombinación ilegítima o no homóloga; capítulo 7). Cuando se produce esta recombinación, los genes que codifican factores de virulencia se tornan cromosómicos. Por último, los virus bacterianos o fagos son otro mecanismo por medio del cual se transporta DNA de un microorganismo a otro. La transferencia de estos elementos genéticos móviles entre miembros de una sola especie o, con menos frecuencia, entre diversas especies, tiene como resultado la transferencia de factores de virulencia, incluidos genes de resistencia antimicrobiana. En el cuadro 9-2 se muestran algunos ejemplos de factores de virulencia codificados por plásmidos y fagos.

Islas de patogenicidad

Las **islas de patogenicidad** (PAI, *pathogenicity islands*) son grandes grupos de genes relacionados con patogenicidad, que se ubican en el cromosoma bacteriano. Son grandes grupos de genes organizados, por lo general de 10 a 200 kb. Las principales propiedades de los PAI son las siguientes: poseen uno o más genes de virulencia; aparecen en el genoma de patógenos de una especie, mas no en los miembros no patógenos; son grandes;

CUADRO 9-2 Ejemplos de factores de virulencia codificados por los genes en elementos genéticos móviles

Género/especie	Factor de virulencia y enfermedad
Codificados por plásmidos	
Escherichia coli	Enterotoxinas termolábiles y termoestables que causan diarrea
Escherichia coli	Hemolisina (citotoxina) de enfermedades invasoras e infecciones urinarias
Escherichia coli y especies de *Shigella*	Factores de adhesión y productos genéticos que participan en la invasión de la mucosa
Bacillus anthracis	Cápsula indispensable para la virulencia (en un plásmido)
	Factor de edema, factor mortal, antígeno protector, todos indispensables para la virulencia (en otro plásmido)
Codificados por fagos	
Clostridium botulinum	Toxina de botulismo que causa parálisis
Corynebacterium diphtheriae	Toxina diftérica que inhibe la síntesis de proteínas humanas
Vibrio cholerae	Tóxina del cólera que causa diarrea líquida abundante

CUADRO 9-3 Algunos ejemplos del gran número de islas de patogenicidad de los microorganismos patógenos para el ser humano

Género y especie	Nombre PAI	Características de virulencia
Escherichia coli	$PAII_{536}II_{536}$	Hemolisina alfa, fimbrias, adhesión, en infecciones urinarias
Escherichia coli	$PAII_{J96}$	Hemolisina alfa, pilosidades P en infecciones urinarias
Escherichia coli (EHEC)	O157	Toxinas de macrófagos de *Escherichia coli* enterohemorrágica
Salmonella serotipo Typhimurium	SPI-1	Invasión y daño de las células hospedadoras; diarrea
Yersinia pestis	HPI/pgm	Genes que aumentan la captación de hierro
Vibrio cholerae El TorO1	VPI-1	Neuraminidasa, utilización de aminoazúcares
Staphylococcus aureus	SCC mec	Resistencia a la meticilina y otros antibióticos
Staphylococcus aureus	SaPI1	Toxina 1 del síndrome de choque tóxico, enterotoxinas
Enterococcus faecalis	NP^m	Citolisina, formación de biopelícula

PAI, isla de patogenicidad
SPI, isla de patogenicidad de *Salmonella*
HPI, isla de alta patogenicidad
VPI, isla de patogenicidad de *Vibrio*
SCC, casete cromosómico estafilocócico mec
SAPI, isla de patogenicidad de *Staphylococcus aureus*
NP, no proteasa

tienen una relación guanina-citosina (G + C) distinta al resto de los genomas bacterianos; suelen estar vinculados con genes de tRNA; a menudo se les encuentra relacionados con elementos genéticos del movimiento; con frecuencia poseen inestabilidad genética; y por lo general representan estructuras de mosaico con componentes adquiridos en distintos momentos. En conjunto, las propiedades de los PAI sugieren que se originan a partir de la transferencia genética de una especie ajena. En el cuadro 9-3 se muestran algunos ejemplos de factores de virulencia PAI.

REGULACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA

Las bacterias patógenas (y otros microorganismos patógenos) se han adaptado a una vida saprófita o libre, quizá a ciertos ambientes fuera del organismo y al hospedador humano. Han creado sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes que son importantes para la virulencia. Con frecuencia una serie de señales ambientales regula la expresión de los genes de virulencia. Algunas de las señales más frecuentes son la temperatura, la disponibilidad de hierro, la osmolalidad, la fase del desarrollo, el pH y determinados iones (p. ej., Ca^{2+}) o nutrientes. En los párrafos siguientes se muestran algunos ejemplos.

El gen de la toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae* es transportado en bacteriófagos lisogénicos. La toxina es producida sólo por cepas lipogenizadas por los bacteriófagos. La producción de toxina aumenta cuando *C. diphtheriae* se cultiva en un medio con poco hierro.

La expresión de los genes de virulencia de *B. pertussis* aumenta cuando la bacteria se cultiva a 37 °C y se suprime cuando se cultiva a una temperatura menor o en presencia de una concentración elevada de sulfato de magnesio o ácido nicotínico.

Los factores de virulencia de *V. cholerae* son regulados por numerosos factores ambientales. La expresión de la toxina del cólera es mayor a un pH de 6 que a un pH de 8.5 y también es mayor a una temperatura de 30 °C que a 37 °C.

También son importantes la osmolalidad y composición de aminoácidos. Existen hasta 20 genes adicionales de *V. cholerae* que se regulan en forma similar.

Y. pestis produce una serie de proteínas codificadas por plásmidos de virulencia. Una de éstas es una proteína capsular antifagocítica fracción 1, que genera la función antifagocítica. La expresión de esta proteína es mayor entre 35 y 37 °C, la temperatura del hospedador, y menor entre 20 y 28 °C, que es la temperatura de la pulga en la que no se necesita actividad antifagocítica. La regulación de otros factores de virulencia en las especies de *Yersinia* también está influenciada por factores ambientales.

La movilidad de las bacterias les permite diseminarse y multiplicarse en sus entornos ambientales o en los pacientes. *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes* son frecuentes en el ambiente, donde la movilidad es importante para ellas. Supuestamente, la motilidad no es importante en la patogenia de las enfermedades causadas por estas bacterias. *Yersinia enterocolitica* es móvil cuando se cultiva a 25 °C, pero no a 37 °C. De igual forma, *Listeria* es móvil cuando se cultiva a 25 °C pero prácticamente es inmóvil a 37 °C.

FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA

Muchos factores determinan la virulencia bacteriana o el potencial de las bacterias para causar infecciones y enfermedades.

Factores de adhesión

Cuando las bacterias penetran en el cuerpo del hospedador, se deben adherir a las células de una superficie hística. Si no se adhiere, es eliminada por el moco y otros líquidos que bañan las superficies de los tejidos. Después de la adhesión, que constituye únicamente un paso en el proceso infeccioso, se forman

microcolonias y se llevan a cabo los pasos ulteriores en la patogenia de la infección.

Las interacciones entre las bacterias y las superficies celulares de los tejidos durante la adhesión son complejas. Diversos factores desempeñan funciones importantes p. ej., la hidrofobicidad de superficie y la carga neta de la superficie, las moléculas de unión en las bacterias (ligandos) y las interacciones de los receptores celulares del hospedador. Con frecuencia las bacterias y células hospedadoras poseen una carga neta negativa en la superficie, por lo tanto, las fuerzas electrostáticas se repelen. Estas fuerzas son vencidas por acciones hidrófobas y otras interacciones más específicas entre la bacteria y la célula hospedadora. En general, entre más hidrófoba sea la superficie de la célula bacteriana, mayor es su adhesión a la célula hospedadora. Las propiedades hidrófobas de la superficie y el potencial para adherirse a las células hospedadoras varían en las diversas cepas de bacterias de una sola especie.

Asimismo, las bacterias poseen moléculas específicas de superficie que interactúan con las células hospedadoras. Muchas bacterias poseen **pilosidades**, que son apéndices gruesos similares a bastones o **fimbrias**, que son estructuras más cortas (parecidas a "pelos") que se extienden en la superficie de la célula bacteriana y participan en la adhesión de la bacteria a la superficie de las células hospedadoras. Por ejemplo, algunas cepas de *E. coli* tienen pilosidades tipo 1, que se adhieren a los receptores de las células epiteliales; esta adhesión se puede bloquear *in vitro* agregando D-manosa al medio. Las cepas de *E. coli* que causan infecciones urinarias casi siempre carecen de adhesión controlada por D-manosa, tienen pilosidades P, que se adhieren a una porción del antígeno P del grupo sanguíneo; la estructura mínima de reconocimiento es el disacárido α-D-galactopiranosil-(1-4)-β-D-galactopiranósido (enlace de adhesión GAL-GAL). La *E. coli* que produce diarrea (véase el capítulo 15) se adhiere por medio de pilosidades (fimbrias) a las células epiteliales intestinales. Al parecer, el tipo de pilosidades y los mecanismos moleculares específicos de la adhesión difieren dependiendo del tipo de *E. coli* que induce la diarrea.

Existen otros mecanismos específicos entre ligando y receptor que han evolucionado para facilitar la adhesión bacteriana a las células hospedadoras, lo cual ilustra los diversos mecanismos que utilizan las bacterias. El estreptococo del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) (capítulo 14) también posee apéndices similares a pelos llamados *fimbrias* que se extienden desde la superficie celular. Las fimbrias contienen **ácido lipoteicoico**, proteína F y proteína M. El ácido lipoteicoico y la proteína F inducen la adhesión del estreptococo a las células epiteliales bucales; esta adhesión es controlada por la fibronectina, que actúa como molécula receptora en la célula del hospedador. La proteína M actúa como molécula antifagocítica y constituye uno de los principales factores de virulencia.

Los anticuerpos que actúan contra determinados ligandos bacterianos que fomentan la adhesión (p. ej., pilosidades y ácido lipoteicoico) pueden bloquear la adhesión a las células hospedadoras y protegen al hospedador contra la infección.

Después de la adhesión, se producen cambios de la conformación de la célula hospedadora que provocan cambios del citoesqueleto que permiten que el microorganismo sea absorbido por la célula. Algunas veces los cambios de la molécula adhesina después de su fijación, desencadenan la activación de genes de virulencia que fomentan la invasión o que tienen como resultado otros cambios patógenos, como se describirá más adelante.

Invasión de las células y tejidos del hospedador

El término utilizado por lo regular para describir el ingreso de bacterias a las células hospedadoras y para muchas bacterias que causan enfermedad es *invasión*. La invasión del epitelio del hospedador es fundamental en el proceso infeccioso. Algunas bacterias (p. ej., especies de *Salmonella*) invaden tejidos a través de las uniones entre células epiteliales. Otras bacterias (p. ej., especies de *Yersinia*, *N. gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*) invaden tipos específicos de las células epiteliales del hospedador y pueden entrar subsecuentemente al tejido. En muchas infecciones, las bacterias producen factores de virulencia que causan que las células del hospedador absorban (ingieran) las bacterias. Las células del hospedador tienen una participación muy activa en el proceso.

Cuando penetran la célula hospedadora, las bacterias pueden permanecer encerradas en una vacuola compuesta de la membrana celular del hospedador, o la membrana de la vacuola puede disolverse y las bacterias pueden dispersarse en el citoplasma. Algunas bacterias (p. ej., especies de *Shigella*) se multiplican dentro de las células hospedadoras, pero otras bacterias no lo hacen.

Por lo general, la producción de toxinas y otras propiedades de virulencia son independientes de la capacidad que tiene la bacteria para invadir las células y tejidos. Por ejemplo, *C. diphtheriae* puede invadir el epitelio de la nasofaringe lo que genera una faringitis asintomática aunque las cepas del microorganismo no sean toxígenas.

Los estudios *in vitro* con células de tejidos en cultivos han ayudado a clasificar los mecanismos de la invasión para algunos microorganismos patógenos; sin embargo, los modelos *in vitro* no necesariamente ofrecen una visión completa del proceso de la invasión. Para comprender en forma integral este proceso, tal y como sucede en las infecciones que se adquieren en forma natural, es necesario estudiar mutantes producidos por ingeniería genética y su potencial para infectar animales y seres humanos susceptibles. Por consiguiente, para conocer la invasión bacteriana de la célula eucariota es necesario observar gran parte de los postulados de Koch así como sus postulados moleculares. A continuación se proporcionarán algunos ejemplos de invasión bacteriana de células hospedadoras como parte del proceso infeccioso.

Las especies de *Shigella* se adhieren a las células hospedadoras *in vitro*. Por lo general se utilizan células HeLa; estas células no polarizadas e indiferenciadas se obtuvieron de un carcinoma cervical. La adhesión provoca polimerización de actina en la porción cercana de la célula HeLa, lo que induce la formación de seudópodos en las células y absorción de la bacteria. La adhesión e invasión son mediadas de forma parcial por productos de los genes ubicados en un gran plásmido común para numerosas shigellas. Existen diversas proteínas, incluidos los **antígenos del plásmido de invasión** (IpA-D, *invasion plasmid antigens*) que contribuyen al proceso. Dentro de las células HeLa, la shigella es liberada o escapa de la vesícula

fagocítica y se multiplica en el citoplasma. La polimerización de actina impulsa a la shigella dentro de la célula HeLa y de una célula a otra. *In vivo*, las shigellas se adhieren a las integrinas situadas en la superficie de las células M de las placas de Peyer y no a las células polarizadas de absorción de la mucosa. Las células M por lo general prueban antígenos y los presentan a los macrófagos en la submucosa. Las shigellas son fagocitadas por las células M y atraviesan a estas células hacia el conglomerado subyacente de macrófagos. Las shigellas dentro de las células M y los macrófagos provocan la muerte de estas células al activar el proceso normal de muerte celular (apoptosis). Las shigellas se extienden hacia las células adyacentes de la mucosa de manera similar al modelo *in vitro*, por medio de polimerización de la actina, que impulsa a las bacterias.

Según estudios que utilizan células *in vitro*, el proceso de adhesión invasión de *Y. enterocolitica* es similar al de *Shigella*. *Yersinia* se adhiere a la membrana celular hospedadora y provoca la formación de proyecciones protoplasmáticas. A continuación las bacterias son absorbidas por la célula hospedadora con formación de vacuolas. La invasión es mayor cuando las bacterias se cultivan a 22 °C en lugar de 37 °C. Una vez que *Yersinia* ha penetrado en la célula, la membrana vacuolar se disuelve y las bacterias son liberadas hacia el citoplasma. *In vivo*, se cree que *Yersinia* se adhiere a las células M de las placas de Peyer y las invade, en lugar de utilizar a las células de absorción de la mucosa, muy similar a *Shigella*.

L. monocytogenes del medio ambiente se ingiere en los alimentos. Supuestamente, la bacteria se adhiere a la mucosa intestinal y la invade, llega hasta el torrente sanguíneo y se disemina. La patogenia de este proceso se ha estudiado *in vitro*. *L. monocytogenes* se adhiere e invade con facilidad a los macrófagos y células intestinales indiferenciadas cultivadas. A continuación estimulan a las células hospedadoras para que las absorban. Ciertas proteínas llamadas **internalinas**, tienen una función importante en este proceso. El proceso de absorción, que es el desplazamiento hacia el interior de una célula y el desplazamiento entre células, requiere la polimerización de actina para impulsar a las bacterias, como sucede con *Shigella*.

Legionella pneumophila infecta a los macrófagos pulmonares y genera neumonía. La adhesión de *Legionella* a los macrófagos induce la formación de un seudópodo largo y delgado que se enrosca alrededor de la bacteria formando una vesícula (**fagocitosis en espiral**). La vesícula permanece intacta, se inhibe la fusión fagolisosómica y la bacteria se multiplica dentro de la vesícula.

N. gonorrhoeae utiliza pilosidades como adhesinas principales y **proteínas asociadas a la opacidad** (**Opa**, *opacity associated proteins*) como adhesinas secundarias a las células hospedadoras. Algunas proteínas Opa median la adhesión a los polimorfonucleares. En ocasiones el gonococo sobrevive después de ser fagocitado por estas células. Las pilosidades y las Opa en conjunto, fomentan la invasión de las células cultivadas *in vitro*. En cultivos de la trompa uterina (falopio), el gonococo se adhiere a las microvellosidades de las células no ciliadas y al parecer induce su fagocitosis por estas células. El gonococo se multiplica dentro de la célula y emigra hacia el espacio subepitelial por un mecanismo desconocido.

Toxinas

Por lo general, las toxinas producidas por bacterias se clasifican en dos grupos: endotoxina, que se encuentra en la membrana externa de los bacilos gramnegativos, y toxinas que son secretadas, como las enterotoxinas y exotoxinas. Las enterotoxinas y exotoxinas se clasifican a menudo por mecanismos de acción y el impacto sobre células hospedadoras; se describen con más detalle después en este capítulo. En el cuadro 9-4 aparecen las características principales de ambos grupos.

CUADRO 9-4 Características de las exotoxinas y endotoxinas (lipopolisacáridos)

Exotoxinas	Endotoxinas
Excretadas por células vivas; concentración elevada en medio líquido	Forman parte integral de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Liberadas cuando la bacteria muere y en parte durante el crecimiento. No siempre es necesaria su liberación para que posean actividad biológica
Producidas por bacterias grampositivas y gramnegativas	Se encuentran sólo en bacterias gramnegativas
Polipéptidos con peso molecular de 10 000 a 900 000	Complejos de lipopolisacáridos. Probablemente la porción del lípido A es la responsable de toxicidad
Relativamente inestable; sus efectos nocivos suelen destruirse con rapidez al calentarlas a más de 60 °C	Relativamente estable; soportan el calor por arriba de 60 °C durante varias horas sin perder su toxicidad
Muy antigénicas; estimulan la formación de una concentración abundante de antitoxina. La antitoxina neutraliza a la toxina	Débilmente inmunógenas; los anticuerpos son antitóxicos y protectores. La relación existente entre la concentración de anticuerpos y la protección contra la enfermedad es menos clara que con las exotoxinas
Se convierte en toxoide antigénico y no tóxico con formalina, ácido, calor, etc. Los toxoides se utilizan para vacunar (p. ej., toxoide tetánico)	No se convierten en toxoides
Altamente tóxica; mortales para animales en microgramos o menos	Moderadamente tóxicas; mortales para animales en decenas a cientos de microgramos
Por lo general se unen con receptores específicos en las células	No existen receptores específicos en las células
Por lo general no causan fiebre en el hospedador	Por lo general causan fiebre en el hospedador a causa de la liberación de interleucina-1 y otros mediadores
Con frecuencia reguladas por genes extracromosómicos (p. ej., plásmidos)	La síntesis es controlada por genes cromosómicos

A. Exotoxinas

Muchas bacterias tanto grampositivas como gramnegativas producen exotoxinas que tienen gran importancia médica. Algunas de estas toxinas han tenido una participación muy importante en la historia mundial. Por ejemplo, el tétanos causado por la toxina de *C. tetani* mató cerca de 50 000 soldados de la Potencias del Eje (*Axis powers*) en la Segunda Guerra Mundial; sin embargo, las fuerzas aliadas vacunaron a sus soldados contra el tétanos y muy pocos murieron por esta enfermedad. Se han creado vacunas contra algunas enfermedades mediadas por exotoxinas y siguen siendo importantes en la prevención de la enfermedad. Estas vacunas, llamadas **toxoides**, son elaboradas a base de exotoxinas, que se modifican para que ya no sean tóxicas. Muchas exotoxinas consisten en subunidades A y B (a menudo llamadas toxinas binarias o toxinas de tipo III). Por lo general la subunidad B controla la adhesión del complejo de toxina a una célula hospedadora y ayuda a que la exotoxina penetre en la célula hospedadora. La subunidad A proporciona actividad tóxica. A continuación se ofrecen algunos ejemplos de los mecanismos patógenos ligados a las exotoxinas. En los capítulos que tratan sobre estas bacterias se describen otras toxinas bacterianas.

C. diphtheriae es un bacilo grampositivo que se reproduce en las mucosas del aparato respiratorio superior o en heridas cutáneas menores (capítulo 12). Las cepas de *C. diphtheriae* que transportan un corinebacteriófago temperado y lisógeno (fago β o fago ω) con el gen estructural para la toxina, son toxígenos y producen la **toxina de la difteria** que causa **difteria**. Son numerosos los factores que regulan la producción de la toxina; cuando la disponibilidad de hierro inorgánico constituye el factor que limita la velocidad de proliferación, entonces se produce la máxima cantidad de toxina. La toxina es secretada como una sola molécula de polipéptido (peso molecular [MW, *molecular weight*] 62 000). Esta toxina natural sufre degradación enzimática para formar dos fragmentos, A y B, unidos por un puente disulfuro. El fragmento B (PM 40 700) se une a ciertos receptores de la célula hospedadora y facilita la penetración del fragmento A (MW 21 150) hacia el citoplasma. El fragmento A inhibe al factor de elongación EF-2 de la cadena peptídica, al catalizar una reacción que adhiere un difosfato de adenosina–ribosilo al EF-2, lo que genera un complejo inactivo de difosfato de adenosina-ribosa-EF-2. La interrupción de la síntesis de proteínas altera las funciones fisiológicas celulares normales. La toxina diftérica es muy potente.

C. tetani es un bacilo anaerobio grampositivo que causa tétanos (capítulo 11). *C. tetani* del medio ambiente contamina las heridas y sus esporas germinan en el medio anaerobio del tejido desvitalizado. Con frecuencia la infección es leve y no tiene manifestaciones clínicas. Las formas vegetativas de *C. tetani* producen la toxina **tetanoespasmina** (MW 150 000) que es fragmentada por una proteasa bacteriana hasta formar dos péptidos (MW 50 000 y MW 100 000) unidos por un puente disulfuro. Al principio la toxina se fija a receptores en las membranas presinápticas de las neuronas motoras. Después migra por el sistema de transporte axonal retrógrado hasta los cuerpos celulares de estas neuronas y hasta la médula espinal y tronco del encéfalo. La toxina se difunde hasta las terminales de las células inhibidoras incluidas interneuronas glicinérgicas y neuronas secretoras de ácido aminobutírico gamma (GABA, *gamma-aminobutyric acid*) del tronco del encéfalo. La toxina degrada a la sinaptobrevina, proteína necesaria para el acoplamiento de las vesículas neurotransmisoras en la membrana presináptica. La liberación de glisina inhibidora y GABA se bloquea y las neuronas motoras no se inhiben. El resultado es una parálisis espástica. Incluso una cantidad sumamente pequeña de toxina es mortal para el ser humano. El tétanos se puede evitar en las personas con una inmunidad normal vacunándolos con toxoide tetánico.

C. botulimun produce botulismo. Este microorganismo anerobio, grampositivo productor de esporas se encuentra en la tierra o el agua y algunas veces crece en los alimentos (p. ej., alimentos envasados o enlatados) cuando el ambiente es lo suficientemente anaerobio. Produce una toxina sumamente potente (la más potente que se conoce). Es termolábil y por lo tanto se destruye con calor suficiente. Existen siete tipos serológicos de toxina. Los que con mayor frecuencia causan enfermedad en el ser humano son los tipos A, B, E y F. La toxina es muy similar a la toxina tetánica, con una proteína con un peso molecular de 150 000 que se fragmenta hasta formar una proteína con un peso molecular de 100 000 y otra con peso molecular de 50 000 unidas por un puente disulfuro. La toxina botulínica es absorbida en el intestino, se adhiere a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras, localizadas en el sistema nervioso periférico y pares craneales. La proteólisis, a través de la cadena ligera de la toxina botulínica, en las neuronas, inhibe la liberación de acetilcolina en la sinapsis, lo que tiene como resultado ausencia de contracción muscular y parálisis flácida.

Las esporas de *C. perfringens* se introducen en las heridas por contaminación con tierra o materia fecal. En presencia de tejido necrótico (ambiente anaerobio), las esporas germinan y las células vegetativas producen muchas toxinas distintas. Muchas de éstas son necrosantes y hemolíticas y, junto con la distensión de los tejidos por el gas formado a partir de los carbohidratos y la interferencia con la irrigación, favorecen la diseminación de **gangrena gaseosa**. La **toxina alfa** de *C. perfringens* es una **lecitinasa** que daña las membranas celulares al degradar a la lecitina para formar fosforilcolina y diglicérido. La toxina teta también posee un efecto necrosante. Las especies de *Clostridium* también producen colagenasas y DNAsas.

Algunas cepas de *S. aureus* que proliferan en las membranas mucosas (p. ej., la vagina durante la menstruación) o en las heridas, elaboran **toxina-1 del síndrome de choque tóxico** (**TSST-1**, *toxic shock syndrome toxin-1*), que causa el síndrome de choque tóxico (capítulo 13). Esta enfermedad se caracteriza por choque, fiebre elevada y un eritema rojo difuso que más tarde se descama; abarca muchos otros órganos y sistemas. TSST-1 es un superantígeno (también denominado toxina de tipo I), y los superantígenos no necesitan entrar a las células para causar su potente alteración celular. La TSST-1 estimula a la mayor parte de linfocitos T mediante unión directa a receptores de MHC-II y a linfocitos T. El resultado neto es la producción de cantidades grandes de citocinas interleucina 2 (IL-2, *interleukin-2*), interferón gamma y factor de necrosis tumoral (TNF, *tumor necrosis factor*) (capítulo 8). Las manifestaciones clínicas principales de la enfermedad parecen ser secundarias a los efectos de las citocinas. Los efectos sistémicos de TSST-1 se deben a la estimulación masiva de citocina. Ciertas cepas

del estreptococo β hemolítico del grupo A producen **exotoxina A y C pirógena** que es similar o igual a la toxina eritrógena estreptocócica, que provoca la escarlatina. La infección de tejidos blandos por estreptococo productor de exotoxina A pirógena progresa con rapidez y se acompaña de una serie de manifestaciones clínicas similares a las del síndrome de choque tóxico estafilocócico. La exotoxina A pirógena también es un superantígeno que actúa de manera similar a la TSST-1.

Las toxinas tipo II son proteínas que afectan de manera típica a las membranas celulares, lo cual facilita la invasión por el patógeno que las secreta (véase también la sección Enzimas que degradan tejidos más adelante). Como ejemplos cabe mencionar las hemolisinas y fosfolipasas, que también se tratan en los capítulos dedicados a los microorganismos.

B. Exotoxinas relacionadas con enfermedades diarreicas e intoxicación alimentaria

Las exotoxinas relacionadas con enfermedades diarreicas son llamadas a menudo enterotoxinas y muchas pertenecen a la familia de toxina tipo III (véase también el cuadro 48-3.) Las características de algunas enterotoxinas se comentan a continuación.

V. cholerae ha causado enfermedad diarreica epidémica (**cólera**) en muchas partes del mundo (capítulo 17) y es otra enfermedad causada por una toxina de importancia tanto histórica como actual. Una vez que penetra en el hospedador a través de alimentos o bebidas contaminadas, *V. cholerae* invade la mucosa intestinal y se adhiere a las microvellosidades del borde de cepillo de las células epiteliales intestinales. Por lo general, el serotipo O1 (y O139) de *V. cholerae*, produce una enterotoxina con un peso molecular de 84 000. Esta toxina consta de dos subunidades: A, que se degrada hasta formar dos péptidos, A_1 y A_2, unidos por un puente disulfuro; y B. Esta subunidad posee cinco péptidos idénticos y une con rapidez las moléculas de gangliósido de la membrana celular. La subunidad A penetra en la membrana celular incrementando la actividad de la adenilato ciclasa y la concentración de AMP cíclico (cAMP, *cyclic AMP*). El efecto neto es la secreción rápida de electrólitos hacia la luz del intestino delgado, con absorción deficiente de sodio y cloruro y pérdida de bicarbonato. Algunas veces la diarrea voluminosa pone en riesgo la vida (p. ej., 20 a 30 L/día), e incluso se puede presentar acidosis. Los efectos nocivos del cólera son secundarios a la pérdida del líquido y al desequilibrio acidobásico; por lo tanto, el tratamiento es la restitución de líquidos y electrólitos.

Algunas cepas de *S. aureus* producen enterotoxinas mientras proliferan en carnes, productos lácteos u otros alimentos. En los casos típicos, el alimento se ha preparado recientemente pero no se ha refrigerado en forma adecuada. Existen cuando menos siete tipos de **enterotoxina estafilocócica**. Una vez que se ingiere la toxina preformada, se absorbe en el intestino, donde estimula a los receptores del nervio vago. Este estímulo se transmite al centro del vómito en el sistema nervioso central. El resultado es la aparición de vómito en unas cuantas horas en forma de proyectil. La diarrea es menos frecuente. La intoxicación alimentaria más frecuente es la estafilocócica. Las enterotoxinas de *S. aureus* son superantígenos.

También producen enterotoxinas algunas cepas de *Y. enterocolitica* (capítulo 19), *Vibrio parahaemolyticus* (capítulo 17), especies de *Aeromonas* (capítulo 17) y otras bacterias, pero la participación de estas toxinas en la patogenia aún no se establece con claridad. La enterotoxina producida por *C. perfringens* se describe en el capítulo 11.

C. Lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas

Los LPS (endotoxina) de las bacterias gramnegativas, forman parte de la pared celular bacteriana y a menudo son liberados cuando la bacteria es lisada. Estas sustancias son termoestables, tienen un peso molecular de 3 000 a 5 000 (**lipooligosacáridos, LOS**) y es posible extraer varios millones (**lipopolisacáridos**) (p. ej., con fenol-agua). Poseen tres regiones principales (véase figura 2-19). El dominio A de lípido es la región reconocida por el sistema inmunológico y es el componene al que se debe la estimulación de citocina (véase luego). Los otros dos componentes son un núcleo de oligosacárido y un polisacárido de antígeno O exterior.

Los **efectos fisiopatológicos de los LPS** son similares en cuanto a su origen bacteriano con excepción de las especies de *Bacteroides*, que poseen una estructura distinta y son menos tóxicos (capítulo 21). Al principio, los LPS en el torrente sanguíneo se fijan a las proteínas circulantes, las cuales interactúan con los receptores de macrófagos, neutrófilos y otras células del sistema reticuloendotelial. Se liberan citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α y otras, y se activan las cascadas del complemento y la coagulación. En la clínica o durante la experimentación se observa lo siguiente: fiebre, leucopenia e hipoglucemia; hipotensión y choque con hipoperfusión de los órganos vitales (p. ej., cerebro, corazón, riñón); coagulación intravascular y muerte por disfunción masiva de órganos.

La inyección de LPS provoca **fiebre** en un lapso de 60 a 90 min, que es el tiempo necesario para que el organismo libere IL-1. La inyección de IL-1 produce fiebre en los primeros 30 min. La inyección reiterada de IL-1 produce la misma respuesta febril cada vez, pero la inyección reiterada de LPS genera una respuesta febril que desciende en forma gradual por tolerancia que en parte es secundaria al bloqueo reticuloendotelial y en parte a los anticuerpos IgM contra los LPS.

La inyección de LPS genera **leucopenia** precoz, al igual que la bacteriemia con microorganismos gramnegativos. Más adelante se produce leucocitosis secundaria. La leucopenia precoz coincide con el inicio de la fiebre por la liberación de IL-1. Los LPS fomentan la glucólisis en muchos tipos celulares y en ocasiones provoca **hipoglucemia**.

Al principio de la bacteriemia por gramnegativos o después de la inyección de LPS, aparece **hipotensión**. En ocasiones se observa contracción arteriolar y venular diseminada seguida de dilatación vascular periférica, aumento de la permeabilidad vascular, reducción del retorno venoso y del gasto cardiaco, estancamiento en la microcirculación, vasoconstricción periférica, choque e hipoperfusión de los órganos con sus consecuencias. La coagulación intravascular diseminada (DIC, *disseminated intravascular coagulation*) también contribuye a estos cambios vasculares.

Los LPS son una de muchas sustancias que activan la vía alterna de la **cascada del complemento**, lo cual precipita una gran variedad de reacciones mediadas por el complemento (anafilatoxinas, respuestas quimiotácticas, daño de la

membrana, etc.) y descenso en la concentración sérica de los componentes del complemento (C3, C5 a C9).

La **coagulación intravascular diseminada** es una complicación frecuente de la bacteriemia por gramnegativos y también ocurre en otras infecciones. Los LPS activan al factor XII (factor de Hageman), que es el primer paso en el sistema intrínseco de la coagulación, y desencadena la cascada de la coagulación, que culmina en la conversión de fibrinógeno a fibrina. Al mismo tiempo, los LPS activan al plasminógeno para formar plasmina (enzima proteolítica), que ataca a la fibrina con la formación de productos de degradación de la fibrina. Dos indicios de DIC son la reducción en el número de plaquetas y en la concentración de fibrinógeno y en la detección de productos de degradación de la fibrina. Algunas veces la heparina previene las lesiones que acompañan a la DIC.

Los LPS provocan adhesión de las plaquetas al endotelio vascular y obstrucción de los vasos sanguíneos pequeños, con necrosis isquémica o hemorrágica en diversos órganos.

La concentración de endotoxinas se mide en la prueba de limulus: el lisado de amebocitos provenientes del cangrejo herradura (limulus) forma un gel o se coagula en presencia de 0.0001 μg/ml de endotoxina. Esta prueba se utiliza rara vez en los laboratorios clínicos puesto que es difícil realizarla con precisión.

D. Peptidoglucano de las bacterias grampositivas

El peptidoglucano de las bacterias grampositivas está formado por macromoléculas entrecruzadas que rodean las paredes bacterianas (capítulo 2 y figura 2-15). También pueden ocurrir cambios vasculares que provocan choque en las infecciones por bacterias grampositivas que no contienen LPS. Estas bacterias poseen mucho más peptidoglucano en la pared celular que las bacterias gramnegativas. El peptidoglucano liberado durante la infección comparte muchas de las actividades biológicas de los LPS, aunque el peptiglucano es mucho menos potente que el LPS.

Enzimas

Numerosas especies de bacterias producen enzimas que no son tóxicas en sí, pero que participan en el proceso infeccioso. A continuación se describen algunas de estas enzimas.

A. Enzimas que degradan tejidos

Muchas bacterias producen enzimas que degradan tejidos. Las mejor estudiadas son las enzimas de *C. perfringens* (capítulo 11) y, en menor grado, de las bacterias anaerobias (capítulo 21), *S. aureus* (capítulo 13) y estreptococo del grupo A (capítulo 14). La participación de las enzimas que degradan tejidos en la patogenia de las infecciones es evidente, pero ha sido difícil de comprobar, en especial de cada enzima individual. Por ejemplo, los anticuerpos contra las enzimas del estreptococo que degradan tejidos, no modifican las características de la enfermedad estreptocócica.

Además de **lecitinasa**, *C. perfringens* produce la enzima proteolítica **colagenasa,** que degrada colágena (la principal proteína del tejido conjuntivo fibroso) y fomenta la diseminación de la infección en los tejidos.

S. aureus produce **coagulasa**, que actúa en conjunto con una serie de factores sanguíneos para coagular el plasma. La coagulasa contribuye a la formación de paredes de fibrinas alrededor de las lesiones estafilocócicas, lo que les ayuda a persistir en los tejidos. Asimismo, la coagulasa provoca depósito de fibrina en la superficie de los estreptococos, lo que ayuda a protegerlos de la fagocitosis o de la destrucción dentro de las células fagocíticas.

Las **hialuronidasas** son enzimas que hidrolizan ácido hialurónico, componente de la sustancia base del tejido conjuntivo. Muchas bacterias producen hialuronidasas (p. ej., estafilococos, estreptococos y anerobios) y ayudan a su diseminación en los tejidos.

Muchos estreptococos hemolíticos producen **estreptocinasa (fibrinolisina)**, sustancia que activa a una enzima proteolítica del plasma. Así, esta enzima puede disolver el plasma coagulado y quizá ayuda a la diseminación rápida del estreptococo en los tejidos. La estreptocinasa se ha utilizado en el tratamiento del infarto agudo del miocardio para disolver los coágulos de fibrina.

Muchas bacterias producen sustancias que son **citolisinas**, es decir, disuelven a los eritrocitos (**hemolisinas**) o aniquilan células hísticas o leucocitos (**leucocidinas**). Por ejemplo, la **estreptolisina O** es producida por el estreptococo del grupo A y es mortal para ratones y hemolítica para los eritrocitos de muchos animales. La estreptolisina O es oxígeno-lábil y, por lo tanto, puede ser oxidada y desactivada pero se reactiva con las sustancias reductoras. Es antigénica. El mismo estreptococo produce una **estreptolisina S** inducida en el suero y oxígeno-estable, que no es antigénica. Los *Clostridium* producen diversas hemolisinas, como la lecitinasa antes descrita. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* produce hemolisinas; el estafilococo también produce leucocidinas. La mayor parte de los bacilos gramnegativos obtenidos a partir de sitios de infección produce hemolisinas. Por ejemplo, las cepas de *E. coli* que causan infecciones urinarias producen de manera típica hemolisinas, mientras que las cepas que forman parte de la microbiota del aparato digestivo producen o no hemolisinas.

B. Proteasas IgA1

La inmunoglobulina A es el anticuerpo secretor de las mucosas. Tiene dos formas principales, IgA1 e IgA2, que difieren región central o bisagra de las cadenas pesadas de las moléculas (capítulo 8). La IgA1 posee una serie de aminoácidos en la región bisagra que no existen en la IgA2. Algunas bacterias patógenas producen enzimas, **proteasas IgA1**, que degradan a la IgA1 en enlaces específicos prolina-treonina o prolina-serina en la región bisagra e inactivan su función de anticuerpo. La proteasa IgA1 es un factor importante de virulencia para las bacterias patógenas *N. gonorrhoeae, N. meningitidis, H. influenzae* y *S. pneumoniae.* También producen estas enzimas algunas cepas de *Prevotella melaninogenica*, algunos estreptococos que causan enfermedades dentales y otras cepas de especies que a veces causan enfermedades. Especies no patógenas de los mismos géneros no poseen genes que codifican esta enzima y por lo tanto no la producen. La producción de proteasa IgA1 permite a los microorganismos patógenos inactivar al principal anticuerpo que se encuentra en las mucosas y, por lo tanto, eliminan la protección que le confiere este anticuerpo al hospedador.

Factores antifagocíticos

Muchas bacterias patógenas son aniquiladas con rapidez una vez que las ingieren los polimorfonucleares o los macrófagos. Otras evaden la fagocitosis o los mecanismos microbicidas leucocíticos al adsorber componentes del hospedador sano en su superficie celular. Por ejemplo, *S. aureus* posee una proteína A de superficie que se une a la porción Fc de IgG. Otras bacterias patógenas poseen factores de superficie que impiden la fagocitosis, p. ej., *S. pneumoniae, N. meningitidis;* muchas otras bacterias tienen cápsulas de polisacáridos. *S. pyogenes* (estreptococo del grupo A) posee una proteína M. *N. gonorrhoeae* (gonococo) tiene pilosidades. La mayor parte de estas estructuras antifagocíticas de superficie, exhiben una gran heterogeneidad antigénica. Por ejemplo, existen más de 90 tipos de polisacáridos capsulares neumocócicos y más de 150 tipos de proteína M del estreptococo A. Los anticuerpos contra un tipo del factor antifagocítico (p. ej., polisacárido capsular, proteína M) protegen al hospedador de enfermar por las bacterias de ese tipo antigénico, pero no contra la de otros tipos antigénicos del mismo factor.

Unas cuantas bacterias (p. ej., *Capnocytophaga* y *Bordetella*) producen factores solubles o toxinas que inhiben la quimiotaxia de los leucocitos y de esta manera evaden la fagocitosis por un mecanismo distinto.

Patogenicidad intracelular

Algunas bacterias (p. ej., *M. tuberculosis, L. monocytogenes*, especies de *Brucella* y especies de *Legionella*) viven y crecen en un ambiente hostil dentro de los polimorfonucleares, macrófagos o monocitos; lo hacen gracias a una serie de mecanismos: algunas veces evitan la entrada a los fagolisosomas y viven en el citosol del fagocito. Otras veces evitan la fusión del fagosoma con el lisosoma y viven dentro del fagosoma; y otras veces son resistentes a las enzimas lisosómicas y sobreviven dentro del fagolisosoma.

Muchas bacterias viven dentro de células no fagocíticas (véase la sección anterior, Invasión de las células y tejidos del hospedador).

Heterogeneidad antigénica

Las estructuras de superficie de las bacterias (y de muchos otros microorganismos) tienen gran heterogeneidad antigénica). Con frecuencia estos antígenos se utilizan como parte de un sistema de clasificación serológica para las bacterias. La clasificación de las 2 000 especies de *Salmonellae* se basa principalmente en los tipos de los antígenos O (cadena lateral de lipopolisacáridos) y antígenos H (flagelar). Asimismo, existen más de 150 tipos de *E. coli* O y más de 100 tipos de *E. coli* K (capsular). El tipo antigénico de la bacteria en ocasiones indica la virulencia, relacionado con la naturaleza clonal de la bacteria patógena, aunque en realidad no constituya el factor (o factores) de virulencia. *V. cholerae* con antígeno O tipo 1 y antígeno O tipo 139, típicamente produce toxina del cólera, pero muy pocos de los otros tipos O producen la toxina. Asimismo, muy pocas variedades de estreptococo del grupo A con proteína M se relacionan con una frecuencia elevada de glomerulonefritis posestreptocócica. Los tipos A y C del polisacárido capsular *N. meningitidis* están relacionados con la meningitis epidémica. En los ejemplos antes citados y en otros sistemas de tipificación en los que se utilizan antígenos de superficie para la clasificación serológica, los tipos antigénicos para determinada cepa aislada de la especie permanecen constantes durante la infección y en el subcultivo de la bacteria.

Otras bacterias y microorganismos tienen la capacidad de realizar cambios frecuentes en la forma antigénica de sus estructuras de superficie *in vitro* y quizá *in vivo*. Un ejemplo conocido es el de *Borrelia recurrentis*, que causa la fiebre recurrente. Otro ejemplo muy estudiado es *N. gonorrhoeae* (capítulo 20). El gonococo posee tres antígenos de superficie que cambian de forma con gran rapidez, cerca de 1 en cada 1 000; seis a ocho tipos de lipooligosacáridos; innumerables tipos de pilosidades; y 10 a 12 tipos de Opa para cada cepa. El número de formas antigénicas es tal que cada cepa de *N. gonorrhoeae* es antigénicamente diferente. El cambio de forma para cada uno de los tres antígenos al parecer es regulado por un mecanismo genético distinto. Supuestamente el cambio frecuente de formas antigénicas permite al gonococo evadir al sistema inmunitario del hospedador; los gonococos que no son atacados por el sistema inmunológico sobreviven y causan enfermedad.

Sistemas de secreción bacterianos

Los sistemas de secreción bacterianos son importantes en la patogenia de la infección y son indispensables para la interacción entre bacterias y células eucariotas del hospedador. Las bacterias gramnegativas poseen paredes celulares con membranas citoplasmáticas y membranas externas; también existe una capa delgada de peptidoglucano. Las bacterias grampositivas tienen una membrana citoplasmática y una capa muy gruesa de peptidoglucano (capítulo 2). Algunas bacterias gramnegativas y grampositivas además poseen cápsulas. La complejidad y rigidez de las estructuras de la pared celular requieren mecanismos para la migración de proteínas a través de las membranas. Estos sistemas de secreción participan en las funciones celulares como el transporte de proteínas que forman las pilosidades o flagelos y en la secreción de enzimas o toxinas hacia el medio extracelular. Las diferencias en la estructura de la pared celular entre las bacterias gramnegativas y grampositivas tienen como resultado ciertas diferencias en los sistemas de secreción. En el capítulo 2 se describen los mecanismos básicos de los distintos sistemas bacterianos de secreción. (Nota: cada sistema de secreción bacteriano se describió en el orden en que fue descubierto, no por su mecanismo de acción.)

Tanto bacterias gramnegativas como grampositivas tienen una vía de secreción general, la cual es el principal mecanismo de secreción proteica (**Sec**). Esta vía participa en la inserción de la mayor parte de proteínas de la membrana bacteriana y proporciona la vía principal para que las proteínas atraviesen la membrana citoplasmática bacteriana. Los microorganismos gramnegativos poseen otros seis mecanismos de secreción de proteínas, los sistemas de secreción (SS) 1 a 6 (algunas veces llamados del I a VI). Éstos se subdividen en los dependientes del Sec (tipos 2 y 5) y que no dependen del Sec (tipos 1, 3, 4 y 6). El tipo 2 SS utiliza el Sec general para transportar las proteínas al periplasma y crea un canal en la membrana externa

formado por un complejo especial de proteínas formadoras de poros. Este tipo 2 SS se utiliza para secretar porciones de toxinas bacterianas tipos A y B, como toxina del cólera. De manera similar, el **tipo 5 SS** utiliza el sistema Sec general para exportar un autotransportador al periplasma; de ahí se transporta a sí mismo a través de la membrana externa. Un ejemplo de este tipo de SS son las proteasas secretadas por *Haemophilus influenzae* contra IgA. Las vías independientes de *Sec* comprenden al **sistema de secreción tipo 1** o **sistema de secreción ABC** (dominio o casete de unión a ATP) y el **sistema de secreción tipo 3**. Las vías tipo 1 y 3 no interactúan con las proteínas que han sido transportadas a través de la membrana citoplasmática por el sistema Sec. En su lugar, estos sistemas translocan proteínas a través de las membranas tanto citoplasmática como externa. El tipo 3, que se activa al contacto con una célula hospedadora eucariota, fomenta el transporte de proteínas directamente desde el interior de la bacteria hasta el interior de la célula hospedadora utilizando una estructura como aguja llamada inyectosoma; cuando se encuentran en el citoplasma de la célula hospedadora, las proteínas transportadas pueden manipular las funciones de la célula hospedadora. *Pseudomonas aeruginosa* posee un sistema de secreción de tipo 3 que al ser expresado puede asociarse con enfermedad más grave. El **sistema de secreción tipo 4** consiste en un complejo de proteína que forma un "túnel" capaz de transportar directamente proteínas o DNA. El SS más reciente por descubrirse es el SS **tipo 6**. Este SS participa en la secreción de proteínas de virulencia en *V. cholerae* y *P. aeruginosa* entre otros patógenos gramnegativos. Un séptimo SS fue descrito en *M. tuberculosis* y todavía no se entiende bien. Su función parece ser la transportación de proteínas a través de ambas membranas, interna y externa. En el cuadro 9-5 se muestran otros ejemplos de

CUADRO 9-5 Ejemplos de moléculas translocadas por los sistemas de secreción bacteriana y su relevancia para la patogenia

Sistema de secreción	Género/especie	Sustrato/participación en la patogenia
Tipo 1 (independiente de *Sec*)	*Escherichia coli*	La hemolisina alfa crea agujeros en las membranas celulares
	Proteus vulgares	Hemolisina
	Morganela morganii	Hemolisina
	Bordetella pertussis	Adenilato ciclasa que cataliza la síntesis de cAMP
	Pseudomonas aeruginosa	Proteasa alcalina
	Serratia marcescens	Zn proteasa que tiene como resultado daño de la célula hospedadora
Tipo 2 (dependiente de Sec)	*Pseudomonas aeruginosa*	Elastasa, exotoxina A, fosfolipasa C, otras
	Legionella pneumophila	Fosfatasa ácida, lipasa, fosfolipasa, proteasa, RNAsa
	Vibrio cholerae	Toxina del cólera
	Serratia marcescens	Hemolisina
Tipo 3 (independiente de *Sec*; dependiente del contacto)	Especies de *Yersinia*	Sistema Ysc-Yop; toxinas que bloquean la fagocitosis e inducen apoptosis
	Pseudomonas aeruginosa	Citotoxina
	Especies de *Shigella*	Regula las señales, invasión y muerte de las células hospedadoras
	Salmonella enterica Subespecie *enterica* Serotipos Choleraesuis, Dublín, Paratyphi, Typhi, Typhimurium, etc	Efectores de las islas 1 y 2 de patogenicidad de *Salmonella* (SPI1 y SPI2) que fomentan la adhesión e invasión de las células hospedadoras
	Escherichia coli	Enterohemorrágica (EHEC) y enteropatógena (EPEC); rompe las barreras epiteliales y uniones estrechas
	Vibrio parahaemolyticus	Poder citotóxico directo
Tipo 4 (dependiente de *Sec* e independiente de *Sec*)		
Sustratos de proteínas	*Bordetella pertussis*	Toxina de tosferina
	Helicobacter pylori	Citotoxina
Sustratos de DNA	*Neisseria gonorrhoeae*	Sistema de exportación de DNA
	Helicobacter pylori	Sistema de captación y liberación de DNA
Tipo 5 (dependiente de Sec)	*Neisseria gonorrhoeae*	IgA1 proteasa fragmenta a la IgA1 en la región de la bisagra y destruye su actividad de anticuerpo (que depende de *sec*)
	Haemophilus influenzae	IgA1 proteasa, adhesinas
	Escherichia coli	Serina proteasa, adhesinas, Fimbrias tipo 1, Fimbrias-P
	Shigella flexneri	Serina proteasa
	Serratia marscenses	Proteasas
	Especies de *Bordetella*	Adhesinas
	Bordetella pertusis	Hemaglutinina filamentosa
	Yersinia pestis	Antígeno capsular
Tipo 6 (independiente de Sec)	*Pseudomonas aeruginosa*	Toxina productora de poros Hcp1
	Vibrio cholerae	Proteínas de virulencia
Tipo 7 (dependiente de Sec)	*Mycobacterium tuberculosis*	CFP-10, objetivo antigénico de linfocitos T ESAT-6

CFP, proteínas de 10 kDa presente en el filtrado de cultivo.

ESAT-6, proteína blanco antigénica de 6 kDa secretada en forma temprana.

sistemas de secreción y su participación en la patogenia. Estos ejemplos sólo son una pequeña muestra diseñada para ilustrar las funciones del gran número de secreciones moleculares, actividades utilizadas por las bacterias para proporcionar nutrientes y facilitar su patogenia.

Necesidades de hierro

El hierro es un nutriente esencial para la proliferación y metabolismo de casi todos los microorganismos; también es un cofactor esencial de numerosos procesos metabólicos y enzimáticos. La reserva de hierro en el ser humano para la asimilación microbiana es limitada puesto que este elemento es fijado por las proteínas altamente afines que se unen a él, llamadas transferrina en el suero y lactoferrina en las mucosas. La capacidad que tiene un microorganismo patógeno de obtener con eficiencia hierro a partir del hospedador es indispensable para causar enfermedad. En el capítulo 5 se describen los requerimientos de hierro, la manera como las bacterias lo adquieren y el metabolismo bacteriano del hierro.

La reserva de hierro repercute en la virulencia de muchos microorganismos patógenos. Por ejemplo, el hierro constituye un factor esencial de virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*. El uso de modelos animales de infección por *Listeria monocytogenes* han demostrado que la mayor cantidad de hierro tiene como resultado una mayor predisposición a la infección, pero la disminución de hierro provoca una supervivencia prolongada; el tratamiento con suplemento de hierro aumenta las infecciones mortales.

El decremento de hierro disponible es importante en la patogenia. Por ejemplo, el gen de la toxina diftérica reside en un bacteriófago lisógeno y sólo las cepas de *C. diphtheriae* que posee este bacteriófago son toxígenas. Esto aumenta la producción de toxina diftérica y potencialmente la difteria se agrava. La virulencia de *N. meningitidis* en ratones aumenta 1 000 veces o más cuando las bacterias se cultivan en un ambiente con poco hierro.

La deficiencia de hierro en el ser humano también influye en el proceso infeccioso. Varios millones de personas en el mundo sufren de ferropenia. Este problema repercute en numerosos aparatos y sistemas como el inmunológico, provocando deficiencia de la inmunidad celular e hipofunción de los polimorfonucleares. Durante una infección activa quizá conviene retrasar el tratamiento con hierro puesto que muchos microorganismos patógenos pueden utilizar la pequeña cantidad de hierro suplementario con lo que aumenta su virulencia.

Función de las biopelículas bacterianas

Una biopelícula es un conglomerado de bacterias interactivas adheridas a una superficie sólida o unas a otras y encerradas dentro de una matriz de exopolisacárido. Difiere de la bacteria del plancton o de vida libre porque las interacciones de los microorganismos no ocurren de la misma forma. Las biopelículas forman una capa viscosa sobre las superficies sólidas y existen en toda la naturaleza. Una biopelícula puede estar formada por una sola especie de bacterias o por varias especies en conjunto. Algunas veces participan los hongos, incluidas las levaduras. Una vez formada la biopelícula, se acumulan moléculas producidas por la bacteria, lo que modifica la actividad metabólica de la bacteria. En el capítulo 2 se describe la biología básica de la biopelícula de exopolisacárido (glucocáliz); la detección de moléculas se describe en el capítulo 1.

La bacteria en la matriz del exopolisacárido puede proteger de los mecanismos inmunitarios del hospedador. Esta matriz también funciona como barrera de difusión para algunos antimicrobianos, pero otros se fijan a ésta. Algunas de las bacterias en la biopelícula exhiben gran resistencia a los antimicrobianos frente a la misma cepa de bacterias cultivadas en caldo, lo que ayuda a explicar la razón por la que es tan difícil tratar infecciones ligadas a biopelículas.

Las biopelículas son importantes en las infecciones de los seres humanos, que son persistentes y difíciles de tratar. Algunos ejemplos son las infecciones del catéter venoso central por *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus*, las infecciones oculares como las que se producen en los lentes de contacto y en los intraoculares, la placa dental y las de prótesis articulares. Quizá el ejemplo de mayor profundidad de una biopelícula en una infección en el ser humano es la de vías respiratorias por *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los animales y seres humanos están colonizados con abundante microbiota, comensales normales que no generan enfermedad y protegen al hospedador.
- Las bacterias virulentas generan enfermedades al elaborar los factores que facilitan la adhesión, persistencia, invasión y toxigenicidad.
- Los genes que codifican factores de virulencia se transportan en elementos genéticos móviles como plásmidos o bacteriófagos o bien se les encuentra en grandes islas de patogenicidad en los cromosomas bacterianos.
- Las pilosidades y fimbrias son estructuras como bastones o pelos, de manera respectiva, que facilitan la adhesión a las células hospedadoras.
- La invasión de las células hospedadoras es un mecanismo complejo que comprende la elaboración de proteínas que facilitan la entrada.
- Las toxinas bacterianas pueden ser extracelulares (exotoxinas) o bien formar parte de la membrana celular bacteriana (endotoxina, LPS) y se encuentran entre las toxinas más potentes en la naturaleza (p. ej., toxina botulínica).
- Otro mecanismo importante para la supervivencia y virulencia bacteriana son las enzimas que degradan tejidos, los factores antifagocíticos, las proteasas de IgA, la heterogeneidad antigénica y la capacidad para quelar hierro.
- Existen cuando menos siete sistemas de secreción bacteriana, complejos proteínicos o canales que aseguran el transporte de las proteínas estructurales y toxigénicas a través de la célula bacteriana después de la traducción.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Mujer de 22 años de edad que trabaja en un vivero y manifiesta antecedentes de fiebre y tos de dos meses de duración. En este periodo ha bajado 5 kg de peso. La radiografía de tórax muestra

infiltrados bilaterales en los lóbulos superiores con cavidades. La tinción del esputo revela bacilos acidorresistentes. Esto significa que probablemente la paciente adquirió la infección por:

(A) Actividad sexual
(B) Ingerir los microorganismos en los alimentos
(C) Utilizar el pasamanos del transporte público
(D) Manipular tierra para macetas
(E) Respirar la secreción en aerosol que contiene el microorganismo

2. Durante la pandemia de una enfermedad bien caracterizada, un grupo de 175 pasajeros voló de Lima, Perú a Los Ángeles. La comida del avión incluyó ensalada de cangrejo, que comió 66% de los pasajeros. Después de aterrizar en Los Ángeles, varios pasajeros se transfirieron a otros vuelos con destino a otras partes de California y otros estados occidentales. Dos de los pasajeros que permanecieron en Los Ángeles manifestaron diarrea líquida intensa. El estado de los demás pasajeros se desconoce. La causa más probable de la diarrea de estos dos pasajeros es:

(A) *Escherichia coli* O157:H7 (lipopolisacárido O antígeno 157; antígeno flagelar 7)
(B) *Vibrio cholerae* tipo O139 (lipopolisacárido O antígeno 139)
(C) *Shigella dysenteriae* tipo 1
(D) *Campylobacter yeyuni*
(E) *Entamoeba histolytica*

3. Una mujer de 65 años de edad tiene un catéter venoso central como tratamiento intravenoso permente. Presenta fiebre y posteriormente varios hemocultivos positivos para *S. epidermidis.* Todas las cepas tienen la misma morfología de las colonias y patrón de susceptibilidad antimicrobiana, lo que sugiere que son iguales. Se cree que en el catéter existe una biopelícula de *Staphylococcus epidermidis.* ¿Cuál de las afirmaciones siguientes es correcta?

(A) La biopelícula que contiene *S. epidermidis* probablemente se desprenderá del catéter
(B) La producción de un polisacárido extracelular inhibe el crecimiento de *S. epidermidis,* limitando la infección
(C) El *S. epidermidis* en la biopelícula probablemente es más sensible al tratamiento antimicrobiano puesto que el metabolismo de estas bacterias es reducido
(D) La detección proteínica de *Staphylococcus epidermidis* aumenta la sensibilidad al tratamiento antimicrobiano
(E) Las complejas interacciones moleculares dentro de la biopelícula dificultan el tratamiento antimicrobiano efectivo y probablemente sea necesario extraer el catéter para curar la infección

4. El primer microorganismo que cumplió con los postulados de Koch (a finales del siglo XIX) fue:

(A) *Treponema pallidum*
(B) *Stenotrophomonas maltophilia*
(C) *Mycobacterium leprae*
(D) *Bacillus anthracis*
(E) *Neisseria gonorrhoeae*

5. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes acerca del lipopolisacárido es correcta?

(A) Interactúa con macrófagos y monocitos lo que provoca liberación de citocinas
(B) El componente tóxico es la cadena lateral O
(C) Forma agujeros en las membranas celulares de los eritrocitos lo que genera hemólisis
(D) Causa hipotermia
(E) Causa parálisis

6. Un varón de 27 años de edad se sometió a una rinoplastia. Se le colocó un tapón nasal para detener la hemorragia. Ocho horas después manifestó cefalea, mialgias y cólico abdominal con diarrea. A continuación apareció un exantema eritematoso (similar a una quemadura por el Sol) en casi todo el cuerpo, incluidas las palmas de las manos y plantas de los pies. Su presión arterial es de 80/50 mmHg. Se dejó el tapón nasal. Las enzimas hepáticas se encontraban elevadas y había datos de insuficiencia renal moderada. ¿Cuál es la causa más probable de esta enfermedad?

(A) Lipopolisacárido
(B) Peptidoglucano
(C) Una toxina que es un superantígeno
(D) Una toxina con subunidades A y B
(E) Lecitinasa (toxina alfa)

7. El microorganismo causal más probable de esta enfermedad (pregunta 6) es:

(A) *Escherichia coli*
(B) *Corynebacterium diphtheriae*
(C) *Clostridium perfringens*
(D) *Neisseria meningitidis*
(E) *Staphylococcus aureus*

8. ¿Cuál de los siguientes se relaciona más probablemente con la formación de una biopelícula bacteriana?

(A) Colonización de las vías respiratorias en un paciente con fibrosis quística y una cepa mucoide (productora de alginato) de *Pseudomonas aeruginosa*
(B) Infección urinaria por *Escherichia coli*
(C) Meningitis por *Neisseria meningitidis*
(D) Tétanos
(E) Impétigo por *Staphylococcus aureus*

9. Respecto al sistema de secreción bacteriano tipo III, ¿Cuál de las aseveraciones siguientes es correcta?

(A) Suelen encontrarse en bacterias comensales grampositivas
(B) Desempeñan una función importante en la patogenia de las enfermedades causadas por toxinas de especies de *Clostridium,* tétanos, botulismo, gangrena gaseosa y colitis seudomembranosa
(C) Provocan la liberación de efectores de patogenia hacia el medio extracelular, lo que fomenta la colonización y multiplicación bacterianas
(D) Inyectan directamente proteínas bacterianas en las células hospedadoras a través de las membranas fomentando la patogenia de las infecciones
(E) Las mutaciones que evitan la secreción bacteriana tipo III fomentan la patogenia

10. ¿Cuál de los siguientes enunciados es correcto?

(A) Los lipopolisacáridos son parte de la pared celular de *Escherichia coli*
(B) La toxina del cólera se fija a los flagelos de *Vibrio cholerae*
(C) La lecitinasa de *Clostridium perfringens* causa diarrea
(D) La toxina 1 del síndrome de choque tóxico es producida por cepas hemolíticas de *Staphylococcus epidermidis*

11. Una paciente de 15 años de edad proveniente de Bangladesh manifiesta diarrea acuosa abundante. Las evacuaciones simulan "agua de arroz". Son abundantes, más de 1 L en los últimos 90 min. No se acompaña de fiebre y por lo demás se encuentra normal con excepción de los efectos de la pérdida de líquidos y electrólitos. La causa más probable de su enfermedad es:

(A) Enterotoxina de *Clostridium difficile*
(B) Una toxina con subunidades A y B
(C) *Shigella dysenteriae* tipo 1 que produce toxina de Shiga
(D) *Escherichia coli* enterotoxígena que produce toxinas termolábiles y termoestables
(E) Enterotoxina F estafilocócica

12. Lo más importante que se puede hacer para tratar a la paciente (pregunta 11) es:
    (A) Administrarle ciprofloxacina
    (B) Administrarle un toxoide en vacuna
    (C) Administrarle la antitoxina correspondiente
    (D) Administrar líquidos y electrólitos
    (E) Cultivar las evacuaciones para establecer el diagnóstico correcto y luego administrar el tratamiento específico
13. Una mujer de 23 años de edad tiene antecedente de infecciones urinarias recurrentes, incluido por lo menos un episodio de pielonefritis. En el análisis del grupo sanguíneo se observa antígeno P del grupo sanguíneo. ¿Cuál de las siguientes es la causa más probable de sus infecciones?
    (A) *Escherichia coli* productora de toxina termoestable
    (B) *Escherichia coli* con antígeno K1 (capsular tipo 1)
    (C) *Escherichia coli* O139 (lipopolisacárido O antígeno 139)
    (D) *Escherichia coli* con pilosidades P (fimbrias)
    (E) *Escherichia coli* O157:H7 (lipopolisacárido O antígeno 157; antígeno flagelar 7)
14. Un varón de 55 años de edad manifiesta pérdida de peso progresiva, dolor abdominal, diarrea y artropatía. Durante la valoración se lleva a cabo una biopsia de intestino delgado. Después de preparar y examinar la muestra bajo el microscopio de luz se observan cuerpos de inclusión positivos con ácido peryódico-Schiff (PAS) en la pared intestinal. ¿Cuál de los siguientes estudios se debe realizar para confirmar el diagnóstico de enfermedad de Whipple, causada por *Tropheryma whipplei*?
    (A) Cultivo en agar
    (B) Amplificación y secuencia de un segmento adecuado de DNA con reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
    (C) Cocultivo con *Escherichia coli*
    (D) Hibridación *in situ*
    (E) Prueba directa de anticuerpos fluorescentes
15. ¿Cuál de los siguientes describe mejor el mecanismo de acción de la toxina diftérica?
    (A) Forma poros en los eritrocitos provocando hemólisis
    (B) Degrada la lecitina en las membranas de las células eucariotas
    (C) Provoca la liberación de factor de necrosis tumoral
    (D) Inhibe al factor de alargamiento 2
    (E) Provoca mayor actividad de la adenilato ciclasa

Respuestas

1. E	6. C	11. B
2. B	7. E	12. D
3. E	8. A	13. D
4. D	9. D	14. B
5. A	10. A	15. D

BIBLIOGRAFÍA

Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes*. Springer, 2005.

Coburn B, Sekirov, Finlay BB: Type III secretion systems and disease. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:535.

Fredricks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.

Götz F: MicroReview: *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microbiol* 2002;43:1367.

Nickerson CA, Schurr MJ (editors): *Molecular Paradigms of Infectious Disease: A Bacterial Perspective*. Springer, 2006.

Ramachandran G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis. *Virulence* 2014;5:213-218.

Relman DA, Falkow S: A molecular perspective of microbial pathogenicity. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Schmidt H, Hensel M: Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:14.

Schroeder GN, Hilbi H: Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:134.

Sun F, Qu F, Ling Y, *et al.*: Biofilm-associated infections: antibiotic resistance and novel therapeutic strategies. *Future Microbiol* 2013;8:877-886.

Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME: *Bacterial Pathogenesis*, 3a. ed. American Society for Microbiology, 2011.



apter 09_Carroll_4R.indd 168 14/04/16

CAPÍTULO 10

Microbiota normal del cuerpo humano

El término "microflora normal" se refiere a la población de microorganismos que habita en la piel y mucosas de las personas sanas. Se calcula que el número de microorganismos que viven dentro del ser humano (ahora llamados **microbiota normal**) es 10 veces mayor que el número de células somáticas y germinativas. Los genomas de estos simbiontes microbióticos se denominan en conjunto, **microbioma**. La investigación ha demostrado que la "**microbiota normal**" proporciona la primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos, ayuda a la digestión, participa en la degradación de toxinas y contribuye a la maduración del sistema inmunitario. Los cambios en esta microbiota normal, o la inflamación originada por estos comensales, generan enfermedades como la enfermedad intestinal inflamatoria.

PROYECTO DEL MICROBIOMA HUMANO

En un intento por comprender la participación de los ecosistemas microbianos residentes en la salud y la enfermedad del ser humano, en el año 2007 los National Institutes of Health lanzaron el Proyecto Microbioma humano (*Human Microbiome Project*). Una de las metas principales de este proyecto es entender la amplia diversidad genética y fisiológica humana, el microbioma y los factores que repercuten en la distribución y evolución de los microorganismos que los forman. Uno de los aspectos de este proyecto consiste en contar con varios grupos de investigación que emprendan simultáneamente el estudio de las comunidades microbianas que viven en la piel y mucosas del ser humano, como la boca, esófago, estómago, colon y vagina, utilizando secuencias genéticas de subunidades pequeñas (16S) de RNA ribosómico. Entre las interrogantes que abordan este proyecto son: ¿Cuál es la estabilidad y resistencia de la microbiota de cada persona a lo largo de un día y en el transcurso de toda su vida? ¿Qué tan similares son los microbiomas entre los integrantes de una familia, de una comunidad, o entre las comunidades en distintos ambientes? ¿Todos los seres humanos tienen un microbioma central identificable y, si lo tienen, cómo se adquiere y transmite? ¿Qué repercute en la diversidad genética del microbioma y cómo repercute esta diversidad en la adaptación de los microorganismos y el hospedador a un estilo de vida distinto y a diversos estados fisiológicos o fisiopatológicos? Ya se han realizado numerosas observaciones. Por ejemplo, se ha establecido que existen grandes diferencias entre los individuos en cuanto al número y tipo de especies de microorganismos que habitan en el colon y que la obesidad quizá guarde relación con los tipos de microbios que participan en determinadas vías metabólicas del aparato digestivo. El lector debe advertir que este campo está evolucionando con rapidez y que los conocimientos que se tienen sobre la microbiota humana cambiarán a medida que se obtenga más información sobre las comunidades microbianas naturales gracias al *Human Microbiome Project.*

IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA NATURAL

La piel y las mucosas siempre albergan diversos microorganismos que se pueden clasificar en dos grupos: 1) la **microbiota natural** que consta de variedades relativamente fijas de microorganismos que suelen encontrarse en determinada región y a determinada edad; si se altera, de inmediato se restablece; y 2) la **microbiota transitoria**, que consta de microorganismos apatógenos o potencialmente patógenos que habitan en la piel o las mucosas durante varias horas, días o semanas. Esta microbiota transitoria es consecuencia del ambiente, no genera enfermedades ni se establece de manera permanente en la superficie. Los miembros de la microflora transitoria por lo general tienen poca importancia siempre y cuando la microflora natural normal permanezca intacta. No obstante, si la microbiota natural se altera, los microorganismos transitorios colonizan, proliferan y generan enfermedades.

Los microorganismos encontrados con mayor frecuencia en las muestras obtenidas de diversas partes del cuerpo humano, consideradas microbiota normal, se enumeran en el cuadro 10-1. En el capítulo 21 se describe la clasificación de la microflora bacteriana anaerobia normal.

Es probable que los microorganismos que se cultivan en el laboratorio representen sólo una fracción de los que forman la microbiota natural o transitoria. Cuando se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa de amplio espectro (PCR, *polymerase chain reaction*) para amplificar el rDNA 16S bacteriano, es posible identificar numerosas bacterias antes no detectadas, como sucede en las secreciones de las pacientes con vaginosis bacteriana. Se ha demostrado que el número de especies que forman la microbiota normal es mucho mayor de lo que se sabía. Por lo tanto, los conocimientos sobre la microbiota normal se encuentran en transición. Como ya se mencionó, es probable que cambie la relación entre los microorganismos antes no identificados, que potencialmente forman parte de la microbiota normal, y la enfermedad.

Los microorganismos con presencia constante en las superficies corporales a menudo se describen como comensales

apter 10_Carroll_4R.indd 169 14/04/16

CUADRO 10-1 Microbiota bacteriana normal

Piel

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus aureus* (pequeña cantidad)
- Especies de *Micrococcus*
- Estreptococo α-hemolítico y no hemolítico (p. ej., *Streptococcus mitis*)
- Especies de *Corynebacterium*
- Especies de *Propionibacterium*
- Especies de *Peptostreptococcus*
- Especies de *Acinetobacter*
- Pequeñas cantidades de otros microorganismos (especies de *Candida*, *Pseudomonas aeruginosa,* etc.)

Nasofaringe

- Cualquier cantidad de los siguientes: difteroides, especies no patógenas de *Neisseria*, estreptococo hemolítico ; *S. epidermidis*, estreptococo no hemolítico, anaerobios (muchas especies para enumerarlas; distintas cantidades de especies de *Prevotella*, cocos anaerobios, especies de *Fusobacterium*, etc.)
- Menor cantidad de los siguientes cuando se acompaña de los microorganismos antes enumerados: levaduras, especies de *Haemophilus*, neumococos, *S. aureus*, bacilos gramnegativos, *Neisseria meningitidis*

Tubo digestivo y recto

- Diversas Enterobacterias con excepción de *Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio* y especies de *Campylobacter*
- Bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa
- Enterococos
- Estreptococo hemolítico α y no hemolítico
- Difteroides
- Pequeñas cantidades de *Staphylococcus aureus*
- Pequeñas cantidades de levaduras
- Grandes cantidades de anaerobios (demasiadas especies para enumerarlas)

Genitales

- Cualquier cantidad de los siguientes: especies de *Corynebacterium*, especies de *Lactobacillus*, estreptococo hemolítico α y no hemolítico, especies no patógenas de *Neisseria*
- Los siguientes cuando son mixtos y no predominantes: enterococos, *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gramnegativos, *Staphylococcus epidermidis, Candida albicans* y otras levaduras
- Anaerobios (demasiados para enumerarlos); los siguientes son importantes cuando crecen en cultivo puro o claramente predominante: especies de *Prevotella, Clostridium* y especies de *Peptostreptococcus*

(esto es, que uno se beneficia mientras el otro parece no resultar afectado). Sin embargo, en algunos sitios (p. ej., el intestino) el **mutualismo** (es decir, ambos participantes se benefician) puede ser una mejor descripción de tal relación. Su proliferación en determinada área depende de ciertos factores fisiológicos como temperatura, humedad, y determinados nutrientes y sustancias inhibidoras. Su existencia no es indispensable para la vida, puesto que es posible criar animales "sin gérmenes" en ausencia completa de microbiota normal. Sin embargo, la microflora natural de ciertas áreas tiene una función determinante en la conservación de la salud y la función normal. Los miembros de la microbiota natural del aparato digestivo sintetizan vitamina K y ayudan a la absorción de nutrientes. En las mucosas y piel, la microbiota natural impide la colonización por microorganismos patógenos y quizá las enfermedades a través de la "**interferencia bacteriana**". Es probable que el mecanismo de la interferencia bacteriana consista en la competencia por los receptores o sitios de unión en las células hospedadoras, competencia por los nutrientes, inhibición mutua por medio de productos metabólicos o tóxicos, inhibición mutua por medio de materiales antibióticos o bacteriocinas o en otros mecanismos. La supresión de la microbiota normal evidentemente crea un vacío local parcial que tiende a ser llenado por microorganismos del ambiente o de otras regiones del cuerpo. Estos microorganismos se comportan como oportunistas y se pueden convertir en patógenos.

Por otro lado, los miembros de la flora normal generan enfermedades en ciertas circunstancias. Estos microorganismos se han adaptado a la forma no invasora de vida definida por las limitaciones del ambiente. Si se les separa forzadamente de las limitaciones de ese entorno y se les introduce en la circulación sanguínea o los tejidos, estos microorganismos pueden volverse patógenos. Por ejemplo, los estreptococos del grupo viridans son los microorganismos naturales más comunes de las vías respiratorias altas. Si se introduce un gran número de ellos en el torrente sanguíneo (p. ej., después de una extracción dental o una intervención quirúgica bucal), pueden alojarse en las válvulas cardiacas deformadas o prótesis valvulares y generar endocarditis infecciosa. Con traumatismos menores (limpieza dental o cepillado vigoroso), un pequeño número de estos microorganismos aparece transitoriamente en la circulación. Las especies de *Bacteroides* son las bacterias naturales más frecuentes del intestino grueso y son inocuas en ese lugar. Sin embargo, si se introducen en la cavidad peritoneal o los tejidos pélvicos junto con otras bacterias como resultado de un traumatismo, provocan supuración y bacteriemia. Hay muchos otros ejemplos, pero lo importante es que la microflora natural normal es inocua e incluso favorable en su ubicación normal dentro del hospedador y en ausencia de otras anomalías; causan enfermedades cuando un gran número se introduce en otra ubicación siempre y cuando existan factores predisponentes.

MICROBIOTA NORMAL DE LA PIEL

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, colonizada por una amplia variedad de microorganismos, la mayor parte de los cuales son inofensivos o incluso beneficiosos para el hospedador. La piel, al estar expuesta de manera constante al ambiente y en contacto con el mismo, es un medio idóneo para contener microorganismos transitorios. Sin embargo, hospeda a una flora natural constante y definida que es modificada en distintas regiones anatómicas por las secreciones, el uso habitual de prendas de vestir o la proximidad a las mucosas (boca, nariz y región perineal) (figura 10-1).

Los microorganismos predominantes de la piel son bacilos difteroides aerobios y anaerobios (p. ej., *Corynebacterium, Propionibacterium*); estafilococo no hemolítico tanto aerobio como anaerobio (*S. epidermidis* y otros estafilococos coagulasa-negativos, en ocasiones *Staphylococcus aureus* y especies de *Peptostreptococcus*); bacilos grampositivos, aerobios y formadores de esporas ubicuos en aire, agua y tierra; estreptococo hemolítico α (estreptococo viridans) y enterococos (especies de *Enterococcus*); y bacilos coliformes gramnegativos y *Acinetobacter*. En los pliegues cutáneos con frecuencia existen hongos y levaduras; en las áreas donde abundan las secreciones sebáceas (genitales, oído externo) existen micobacterias no patógenas.

Los principales factores para eliminar a los microorganismos extraños de la piel son el pH bajo, los ácidos grasos de las secreciones sebáceas y la presencia de lisozimas. Ni la sudoración profusa ni el hecho de lavarse las manos o bañarse elimina o modifica de manera considerable la microflora natural normal. Se puede reducir el número de microorganismos superficiales si se frota diaria y vigorosamente con jabón que contenga hexaclorofeno o algún otro desinfectante, pero la microflora se restituye rápidamente a partir de las glándulas sebáceas y sudoríparas, incluso cuando se excluye por completo el contacto con otras áreas de la piel o con el ambiente. La aplicación de un apósito oclusivo en la piel tiende a provocar un gran aumento de la población total de microorganismos y también genera alteraciones cualitativas de la microflora.

Las bacterias tanto anaerobias como aerobias a menudo se unen y producen infecciones sinérgicas (gangrena, fascitis necrosante, celulitis) de la piel y tejidos blandos. Con frecuencia las bacterias forman parte de la flora microbiana normal. Casi siempre es difícil señalar el microorganismo específico que causa la lesión progresiva, puesto que por lo general participan mezclas de microorganismos.

Además de ser una barrera física, la piel es una barrera inmunológica. Los queratinocitos comprueban continuamente la microbiota que coloniza la superficie cutánea por medio de **receptores de reconocimiento de patrones** (p. ej., receptores tipo Toll, receptores de manosa, receptores tipo NOD). La activación de los receptores de reconocimiento de patrones de los queratinocitos a través de los patrones moleculares del microorganismo patógeno, desencadena una respuesta inmunitaria innata, que tiene como resultado la secreción de péptidos antimicrobianos, citocinas y quimiocinas. A pesar de estar constantemente expuesta a un gran número de microorganismos, la piel puede distinguir entre comensales inocuos y microorganismos patógenos nocivos. El mecanismo para lograr esta selectividad se desconoce.

MICROBIOTA NORMAL DE LA BOCA Y VÍAS RESPIRATORIAS ALTAS

La flora de la nariz consta de corinebacterias, estafilococos (*S. epidermidis, S. aureus*) y estreptococos importantes.

A diferencia de las comunidades altamente diferenciadas de las madres, los recién nacidos albergaban comunidades bacterianas indiferenciadas en los diversos hábitats del organismo, sin importar la vía del nacimiento. Por lo tanto, durante la primera etapa del desarrollo de comunidades (< 5 min después del parto), la microbiota humana se distribuye de manera homogénea en el cuerpo. Los lactantes que nacen por vía vaginal albergan comunidades bacterianas (en todos los hábitats del cuerpo) con una composición muy similar a las comunidades vaginales de las madres; los recién nacidos que nacen por cesárea carecen de bacterias de la comunidad vaginal (p. ej., *Lactobacillus, Prevotella, Atopoboium* y especies de *Sneathia*). Los neonatos que nacen por cesárea albergan comunidades bacterianas (en todos los hábitats del cuerpo) que son más similares a las comunidades cutáneas de la madre (p. ej., *Staphylococcus, Corynebacterium* o especies de *Propionibacterium*).

En las primeras 4 a 12 h después del nacimiento, los estreptococos viridans se establecen como el integrante principal de la flora normal y lo sigue siendo toda la vida. Estos microorganismos probablemente se originan en el aparato respiratorio de la madre y las personas que la atendieron. Muy pronto se agregan estafilococos aerobios y anaerobios, diplococos gramnegativos (*Neisseria, Moraxella catarrhalis*), difteroides y algunos lactobacilos. Cuando emergen los dientes se establecen espiroquetas anaerobias, especies de *Prevotella* (en especial *Prevotella melaninogenica*), especies de *Fusobacterium*, especies de *Rothia* y de *Capnocytophaga* (véase más adelante), además de algunos vibrios anaerobios y lactobacilos. Normalmente hay especies de *Actinomyces* en el tejido amigdalino y las encías de los adultos, que algunas veces se acompañan de diversos protozoarios. En la boca existen levaduras (especies de *Candida*).

En la tráquea y faringe se establece una microflora similar, pero en los bronquios normales se encuentran muy pocas bacterias. Los bronquios pequeños y los alvéolos normalmente son estériles. Los microorganismos que predominan en las vías respiratorias altas, en especial la faringe, son estreptococos no hemolíticos y hemolíticos-α y *Neisserias*. También se observan estafilococos, difteroides, *Haemophylus*, neumococos, micosplasmas y *Prevotella*.

Se han descrito más de 600 especies en la cavidad bucal del ser humano, pero existe muy poca información sobre la microbiota normal de las personas sanas. El microbioma bucal humano, representado por el microbioma salival, se estudió en fecha reciente en muestras obtenidas de 120 individuos sanos de 12 regiones del mundo por medio de secuencias de rRNA 16S. El microbioma salival posee una diversidad considerable, tanto dentro de un mismo individuo como entre un individuo y otro; sin embargo, no varía mucho en el mundo. Las secuencias rRNA 16S pudieron asignarse a 101 géneros de bacterias conocidas, de los cuales 39 no habían sido notificados previamente en la cavidad bucal del ser humano; el análisis filogenético sugiere que también existen otros 64 géneros desconocidos.

Las infecciones de la boca y el aparato respiratorio por lo general son causadas por la flora buconasal mixta, incluidos

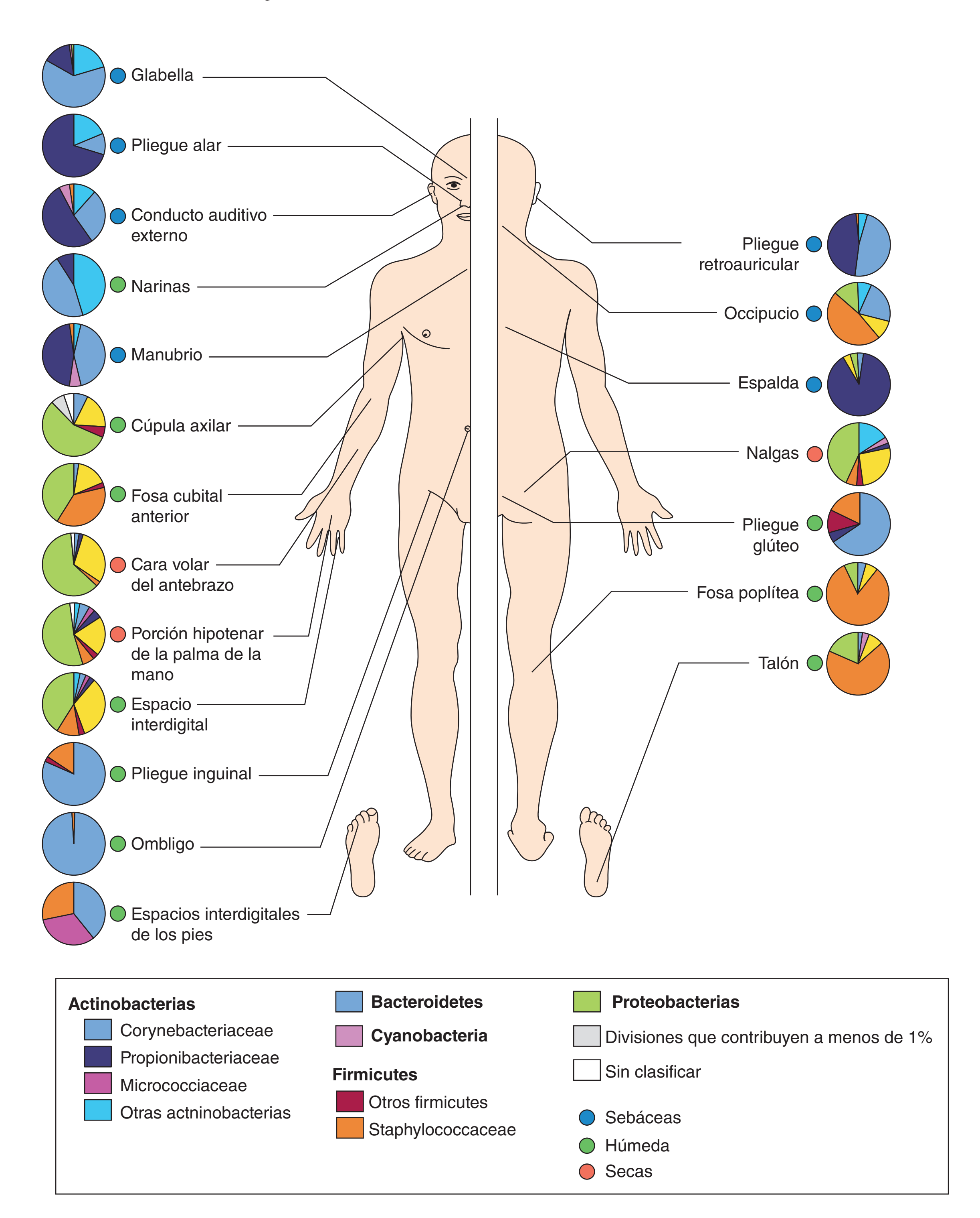


FIGURA 10-1 Distribución topográfica de las bacterias en las regiones cutáneas. El microbioma cutáneo depende en gran parte del microambiente de la región de donde se obtiene la muestra. Se señala la clasificación a nivel de familias de las bacterias que colonizan a un sujeto con la fila en **negritas**. Las regiones seleccionadas fueron las que exhibían cierta predilección por las infecciones cutáneas bacterianas y se agrupan en sebáceas o grasas (*círculos azules*); húmedas (típicamente los pliegues cutáneos; *círculos verdes*) y superficies secas u opacas (*círculos rojos*). Las regiones sebáceas son la glabela (entre las cejas), el pliegue alar (a los lados de las narinas); el conducto auditivo externo [dentro del oído]), el plieque retroauricular (detrás del pabellón auricular), el occipucio (detrás de la cabeza), el pliegue cubital anterior (cara interna del codo), los pliegues interdigitales (entre los dedos medio y anular), el pliegue inguinal (dentro de la ingle), el pliegue glúteo (la parte superior del pliegue entre los glúteos), la fosa poplítea (detrás de la rodilla), el talón plantar (porción inferior del talón del pie), espacios interdigitales de los pies y ombligo. Las regiones secas son la cara volar del antebrazo (cara interna del antebrazo), porción hipotenar de la palma (porción de la palma proximal al dedo meñique) y glúteo. (Reimpresa con autorización de Macmillan Publishers Ltd.: Grice EA, Segre JA, The Skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:244-253. Copyright © 2011.)

anaerobios. Las infecciones periodontales, abscesos peribucales, sinusitis y mastoiditis por lo general son causados por *P. melaninogenica, Fusobacteria* y *Peptostreptococci*. La aspiración de la saliva (que contiene hasta 10^2 de estos microorganismos aerobios) genera neumonía necrosante, absceso pulmonar y empiema.

Importancia de la microbiota bucal normal en la placa bacteriana y caries dental

La placa bacteriana, que se ha considerado y tratado como una biopelícula compleja, se define de manera sencilla como el depósito dental adherente que se forma en la superficie de los dientes y se compone casi por completo de bacterias derivadas de la microflora normal de la boca (figura 10-2). La placa bacteriana es la biopelícula más frecuente y densa en el ser humano. Las ventajas para los microorganismos de la biopelícula incluyen protección de los peligros ambientales (incluidos los antimicrobianos) y optimización de la disposición espacial, lo que aumenta al máximo la energía mediante el movimiento de nutrientes. Los microorganismos de la biopelícula interactúan de manera dinámica en muchos niveles tanto metabólicos como moleculares. La biopelícula inicialmente se forma en relación con la **película dental**, que es una capa orgánica delgada y fisiológica que cubre la superficie mineralizada del diente y está formada por proteínas y glucoproteínas derivadas de la saliva y otras secreciones bucales (figura 10-2). La placa crece en relación con la película y no sobre el diente mineralizado mismo. La placa se forma en etapas y capas en dos niveles. El primero es la ubicación anatómica de la placa en relación con la línea gingival. La placa más incipiente es supragingival y luego se extiende hacia la región subgingival. El segundo nivel es la formación de capas dentro de la misma placa, las especies de bacterias albergadas y los mecanismos de unión entre bacterias-película y bacterias-bacterias. Los microorganismos iniciales son principalmente bacterias grampositivas que utilizan interacciones iónicas e hidrofóbicas específicas además de estructuras superficiales como lectina para adherirse a la película y a otras bacterias. El colonizador prototipo inicial es *Streptococcus sanguis,* pero casi siempre existen otros estreptococos (*S. mutans, S. mitis, S. salivarius, S. oralis, S. gordonii*), lactobacilos y especies de *Actinomyces*. Los pobladores tardíos aparecen en la biopelícula de dos a cuatro días después y constan principalmente de anaerobios gramnegativos (p. ej., *Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium,* especies de *Veillonella*) incluidas espiroquetas anaerobias (p. ej., *Treponema denticola*) y más especies de *Actinomyces*. Estas bacterias utilizan mecanismos similares para fijarse a los pobladores iniciales y a otras bacterias. Sintetizan polímeros de glucano extracelular de alto peso molecular, que actúan como cemento que une a las capas de la placa. Los polímeros de carbohidrato (glucanos) son producidos principalmente por estreptococos (*Streptococcus mutans*), quizá en combinación con especies de *Actinomyces*. En total se cree que hay entre 300 y 400 especies de bacterias en una placa dental madura.

La **caries** es una desintegración de los dientes que empieza en la superficie y avanza hacia el interior. Primero se desmineraliza el esmalte superficial, que carece de células. Este fenómeno se atribuye al efecto que tienen los productos ácidos de la actividad metabólica glucolítica cuando las bacterias de la placa se alimentan con el sustrato correcto. La descomposición ulterior de la dentina y el cemento de la superficie expuesta de la raíz comprende la digestión bacteriana de la matriz proteínica. Se considera que el microorganismo dominante al principio de la caries es *S. mutans;* sin embargo, muchos miembros de la biopelícula participan en la evolución de estas lesiones. Estos comprenden a otros estreptococos (*S. salivarius, S. sanguis, S. sobrinus*), lactobacilos (*L. acidophilus, L. casei*) y actinomicetos (*A. viscosis, A. naeslundii*). La causa fundamental de las caries es la gran cantidad de productos ácidos orgánicos producidos a partir de los carbohidratos por la interacción de *S. mutans* con estas otras especies de la placa. La acumulación de estos productos ácidos provoca el descenso del pH de la placa lo suficiente como para reaccionar con la hidroxiapatita del esmalte desmineralizándolo hasta formar calcio soluble y iones fosfato. La producción de ácido y el pH bajo se mantienen hasta que se agota el sustrato, después de lo cual el pH de la placa vuelve a una cifra más neutra de reposo y se produce cierta recuperación.

Los monosacáridos de la alimentación (p. ej., glucosa, fructuosa) y disacáridos (p. ej., sacarosa, lactosa y maltosa) ofrecen un sustrato adecuado para la glucólisis bacteriana (capítulo 6) y la producción de ácido que genera desmineralización del diente. Los alimentos con un alto contenido de azúcar, principalmente sacarosa, que se adhiere al diente y se elimina en un tiempo más prolongado, son más cariógenos que los alimentos con menos retención, como los líquidos que contienen azúcar. Una ventaja posible de *S. mutans* es su capacidad de metabolizar sacarosa de manera más eficiente que otras bacterias bucales. Otro factor es que también se necesita sacarosa para sintetizar poliglicanos extracelulares como dextranos y levanos a través de las enzimas transferasas en la superficie celular bacteriana. La producción de poliglicanos contribuye a la agregación y acumulación de *S. mutans* en la superficie dental y además sirve como depósito extracelular de sustrato para otras bacterias de la placa.

Las bolsas periodontales de las encías son fuentes especialmente abundantes de microorganismos, incluidos anaerobios, que rara vez se encuentran en otros sitios. La enfermedad periodontal inducida por la placa comprende dos trastornos distintos, **gingivitis** y **periodontitis crónica**. Ambos trastornos son causados por las bacterias de la placa bacteriana subgingival encontradas dentro del surco gingival o el surco que rodea al cuello dental. La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica inducida por una biopelícula que afecta los tejidos que dan sustento a la dentadura. Aunque la biopelícula asociada a la dentadura participa de manera determinante en el inicio y progresión de la periodontitis, es primariamente la respuesta inflamatoria del hospedador la que propicia el daño periodontal, lo cual desemboca en pérdida de dientes en algunos casos. Se ha propuesto la hipótesis de que *Porphyromonas gingivalis* deteriora la inmunidad innata en formas que alteran el crecimiento y desarrollo de la biopelícula completa, lo que desencadena un rompimiento de la interacción homeostática normal entre hospedador y microbiota en el periodonto. Si bien contribuyen a la enfermedad periodontal y destrucción del tejido, llaman más la atención cuando se implantan en otros sitios (p. ej., cuando causan endocarditis infecciosa o bacteriemia en

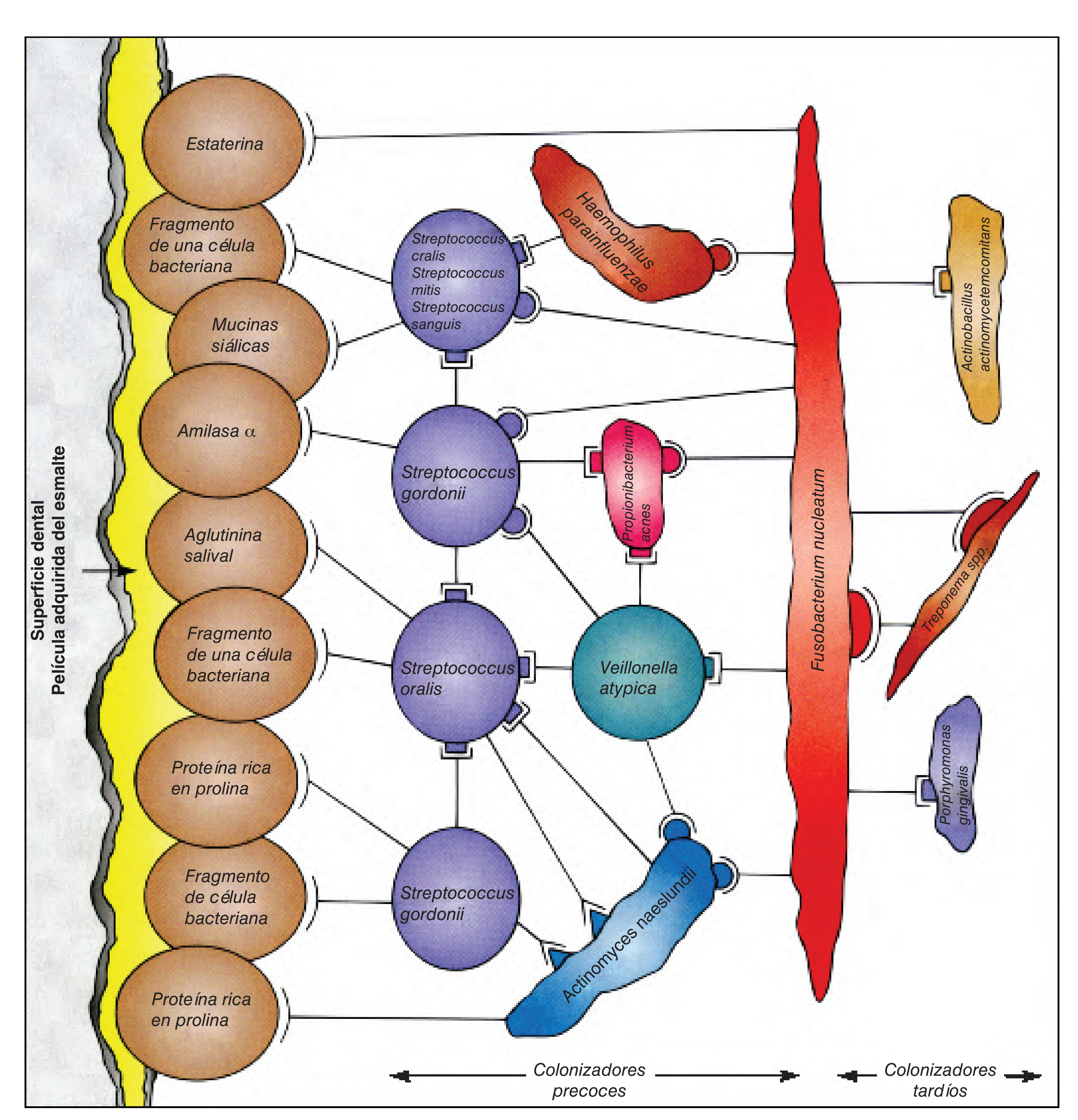


FIGURA 10-2 Biopelícula de la placa dental. Se muestran las etapas de la formación de la bioplaca bacteriana denominada placa dental. Los primeros pobladores se adhieren a la película y los pobladores tardíos se adhieren a las otras bacterias. (Reimpresa con autorización de Willey J, Sherwood L, Woolverton C, [editores]. *Prescott's Principles of Microbiology.* McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

un hospedador granulocitopénico). Dos ejemplos son las especies de *Capnocytophaga* y *Rothia dentocariosa.* Las especies de *Capnocytophaga* son anaerobios deslizantes fusiformes gramnegativos; las especies de *Rothia* son bacilos pleomorfos, aerobios, grampositivos. En los pacientes inmunodeprimidos con granulocitopenia, este fenómeno puede generar lesiones oportunistas graves en otros órganos.

Para detener la caries es necesario extirpar la placa, reducir el consumo de sacarosa, alimentarse bien con un consumo suficiente de proteínas y reducir la producción de ácido en la boca con la disminución de los carbohidratos disponibles y la limpieza frecuente. La aplicación de flúor en los dientes o su ingestión en el agua mejora la resistencia ácida del esmalte. Para detener la enfermedad periodontal es necesario extirpar

los cálculos (depósitos calcificados) y tener una buena higiene bucal.

Microbiota normal del intestino

El aparato digestivo del ser humano se divide en secciones, que permiten separar la digestión y absorción de nutrientes en la región proximal de la gran cantidad de poblaciones microbianas presentes en el intestino grueso. Al nacer, el intestino es estéril, pero poco después se introducen microorganismos con el alimento. El ambiente (p. ej., la microbiota vaginal materna, la fecal o la cutánea) constituye un factor fundamental para establecer el perfil microbiano inicial. En muchos de los primeros estudios se publicaba que en la microbiota intestinal de los lactantes alimentados con leche materna predominaba *Bifidobacteria*. Sin embargo, estudios más recientes con técnicas de micromatriz y PCR cuantitativa indicaron que en la mayoría de los recién nacidos la *Bifidobacteria* no aparecía sino hasta varios meses después del nacimiento y de ahí en adelante persistía en el menor número de los casos. En los niños alimentados con biberón, hay una flora más mixta en el intestino y los lactobacilos son menos predominantes. Conforme los hábitos alimenticios adquieren el patrón del adulto, la microflora intestinal cambia. La alimentación repercute de manera significativa en la composición relativa de la microflora tanto intestinal como fecal. Por ejemplo, se ha demostrado que los individuos que consumen una dieta basada en productos animales tienen una mayor abundancia de microorganismos tolerantes a la bilis (*Alistipes, Bilophilia* y *Bacteroides*) y menores concentraciones de *Firmicutes* que metabolizan los polisacáridos de verduras de la dieta (*Roseburia, Eubacterium rectale* y *Ruminococcus bromii*). El intestino del recién nacido en cuidados intensivos tiende a estar colonizado por *Enterobacteriaceae* como *Klebsiella, Citrobacter* y *Enterobacter.*

En el adulto sano, el esófago contiene microorganismos que llegan con la saliva y los alimentos. La acidez del estómago mantiene a los microorganismos en un mínimo (10^2 a 10^3/ml de contenido) a menos que la obstrucción del píloro facilite la proliferación de cocos y bacilos grampositivos. De los cientos de filotipos detectados en el estómago humano, sólo *Helicobacter pylori* persiste en este ambiente. El pH normalmente ácido del estómago lo protege contra la infección por diversos microorganismos intestinales patógenos (p. ej., *Vibrio cholerae*). La administración de antiácidos, antagonistas de los receptores de H_2 e inhibidores de la bomba de protones para la úlcera péptica y el reflujo gastroesofágico aumenta de manera considerable la flora microbiana del estómago, incluidos diversos microorganismos que por lo general están en las heces fecales. A medida que el pH del contenido intestinal se alcaliniza, la flora residente aumenta de manera gradual. En el duodeno del adulto hay 10^3 a 10^4 bacterias/ml de líquido emitido; con poblaciones más altas en el yeyuno, 10^4 a 10^5 bacterias/ml, e íleo, 10^8 bacterias/ml; y en el ciego y colon transverso, 10^{11} a 10^{12} bacterias/ml, que es la cifra más alta registrada en cualquier hábitat microbiano. En la parte alta del intestino, la población bacteriana de la mucosa comprende al filum *Bacteriodetes* y miembros de *Clostridiales* y en la luz se observan miembros de *Enterobacteriales* y enterococos. En el colon sigmoides y recto, las bacterias constituyen cerca del 60% de la masa fecal. El número de anaerobios es 1 000 veces mayor que los microorganismos facultativos. Durante la diarrea, el contenido bacteriano disminuye de manera considerable, pero en la estasis intestinal la cuenta aumenta.

En el colon del adulto sano, entre 96 y 99% de la flora bacteriana consta de anaerobios. Predominan seis filas principales; éstas son *Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Verrucomicrobiota, Fusobacteria* y *Proteobacteria.* La flora fecal normal contiene más de 100 tipos distintos de microorganismos, que se pueden cultivar en los laboratorios. Las *Archae* están representadas sobre todo por el productor de metano *Methanobrevibacter smithii*, un microorganismo poco abundante que participa de manera importante en la estabilización de comunidades microbianas en el intestino. Quizá existen más de 500 especies de bacterias en el colon y muchas más que probablemente se desconocen. Además de *Bacteria* y *Archae* hay otros microorganismos como protozoarios y hongos cuyas funciones son menos conocidas. En el colon son muy frecuentes los virus, principalmente bacteriófagos cuyos hospedadores son miembros importantes de la microbiota. Un traumatismo menor (p. ej., sigmoidoscopia, enema opaco) induce una bacteriemia transitoria en 10% de los procedimientos.

Las funciones importantes de la microbiota intestinal se dividen en tres categorías principales (véase la revisión de O'Hara y Shanagan, 2006). Las primeras son funciones protectoras, en las que las bacterias desplazan e inhiben a los microorganismos patógenos potenciales en forma indirecta al competir por los nutrientes y receptores o bien directamente al producir factores antimicrobianos como bacteriocinas y ácido láctico. En segundo lugar, los microorganismos comensales son importantes para la formación y función del sistema inmunitario de las mucosas. Inducen la secreción de IgA, estimulan el desarrollo del sistema inmunitario humoral intestinal y modulan las respuestas locales de linfocitos T y los perfiles de citocinas. La tercera categoría consta de una gran variedad de funciones metabólicas. La microbiota del intestino delgado contribuye a las necesidades de aminoácidos del hospedador cuando no los obtiene de la alimentación. Las bacterias intestinales producen ácidos grasos de cadena corta que regulan la diferenciación de las células epiteliales intestinales. Sintetizan vitamina K, biotina y folato, y fomentan la absorción de iones. Algunas bacterias metabolizan carcinógenos alimenticios y ayudan con la fermentación del residuo alimenticio que no se digiere. Ahora se sabe que las bacterias intestinales pueden influir en el depósito de grasa del hospedador y provocar obesidad.

Las archae metanógenos son componentes de menor importancia de la microbiota del intestino. Sin embargo, su capacidad de reducir los compuestos orgánicos pequeños (p. ej., CO_2, ácido acético, ácido fórmico y metanol) en metano en presencia de H_2, tiene consecuencias significativas debido a que la eliminación de exceso de hidrógeno por metanogénesis impide la inhibición de deshidrogenasa de NADH bacteriana. Esto, a su vez, conducirá a un incremento de la producción de ATP por el metabolismo bacteriano (capítulo 6) y una mayor obtención de energía de la dieta.

En el ser humano, los antimicrobianos que se administran por vía oral suprimen en forma temporal los componentes sensibles a los fármacos de la microflora fecal. Los efectos

inmediatos del tratamiento antimicrobiano sobre la microbiota intestinal natural van desde una diarrea que se resuelve en forma espontánea hasta una colitis pseudomembranosa grave. La supresión intencional de la microflora fecal casi siempre se lleva a cabo con la administración preoperatoria de fármacos insolubles por vía oral. Por ejemplo, la neomicina con eritromicina suprime en uno o dos días una parte de la microflora intestinal, en especial a los aerobios. El metronidazol tiene la misma función pero con anaerobios. Si se lleva a cabo una operación de la porción final del intestino cuando el recuento de microorganismos es menor, es posible proteger contra las infecciones por un derrame accidental. Sin embargo, poco después el recuento de la microflora fecal aumenta hasta alcanzar la cifra normal o incluso una cifra mayor, principalmente de microorganismos seleccionados por su resistencia relativa a los fármacos utilizados. Los microorganismos sensibles al fármaco son sustituidos por microorganismos resistentes, en especial estafilococos, enterobacterias, enterococos, proteus, pseudomonas, *Clostridium difficile* y levaduras.

El consumo de grandes cantidades de *Lactobacillus acidophilus* permite el establecimiento temporal de este microorganismo en el intestino y la supresión parcial concomitante de otra microflora intestinal.

El **trasplante de microbiota fecal** (FMT, *fecal microbiota transplantation*), también conocido como **trasplante de heces**, es el proceso de trasplantar bacterias fecales de un individuo sano a un receptor. Se ha utilizado con éxito como tratamiento de pacientes con infección por *C. difficile* (capítulo 11). La hipótesis que sustenta el éxito del FMT se apoya en el concepto de **interferencia bacteriana**, es decir, el uso de bacterias inofensivas para desplazar bacterias patógenas. El FMT restablece la microbiota colónica a su estado natural mediante la sustitución de especies de *Bacteroides* y *Firmicutes* perdidos. Sin embargo, estudios recientes sugieren que pueden ser importantes otros factores.

La flora anaerobia del colon, incluidos *B. fragilis,* clostridios y peptoestreptococos, participa en la formación de los abscesos que se originan durante la perforación intestinal. *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens* son importantes en los abscesos de la pelvis que se forman en los órganos genitales femeninos. Al igual que *B. fragilis*, estas especies son resistentes a la penicilina; por lo tanto, se debe utilizar otro fármaco.

Si bien la microbiota intestinal normalmente es una ventaja para el hospedador, en los individuos con predisposición genética a algunos de los componentes de la flora generan enfermedades. Por ejemplo, se cree que las enfermedades intestinales inflamatorias están relacionadas con la falta de tolerancia inmunitaria a los antígenos bacterianos. Esto provoca una inflamación intensa por una respuesta inmunitaria exagerada. Mecanismos similares quizá sean importantes en el cáncer intestinal como el de colon.

MICROBIOTA NORMAL DE LA URETRA

La porción anterior de la uretra en ambos sexos contiene un pequeño número del mismo tipo de microorganismos encontrados en la piel y perineo. La micción normal de orina contiene aproximadamente 10^2 a 10^4/ml de estos microorganismos.

MICROBIOTA NORMAL DE LA VAGINA

Poco después del nacimiento, aparecen lactobacilos aerobios en la vagina y persisten siempre y cuando el pH permanezca ácido (varias semanas). Cuando el pH se neutraliza (permanece así hasta la pubertad) hay una flora mixta de cocos y bacilos. Durante la pubertad, reaparecen los lactobacilos aerobios y anaerobios en gran cantidad y contribuyen a mantener el pH ácido al producir ácido a partir de carbohidratos, en especial glucógeno. Parece que este es un mecanismo importante que impide el establecimiento de otros microorganismos potencialmente nocivos en la vagina. Cuando los lactobacilos se suprimen con la administración de antimicrobianos, aumenta el número de levaduras u otras bacterias, lo que causa irritación e inflamación. La **vaginosis bacteriana** es un síndrome caracterizado por cambios drásticos en el tipo y proporción relativa de la microbiota vaginal cuando el ecosistema vaginal se transforma de un medio sano, caracterizado por la presencia de lactobacilos, a un medio enfermo, caracterizado por la presencia de microorganismos que pertenecen a filotaxa como *Actinobacteria* y especies de *Bacteroidetes.* En un estudio reciente sobre el microbioma vaginal de 396 mujeres en edad reproductiva asintomáticas se observaron variaciones en el pH vaginal y microbioma vaginal de grupos étnicos diferentes (p. ej., blancas, negras, hispanas y asiáticas), lo cual sugiere la necesidad de considerar el origen étnico como un factor importante cuando se valora la flora normal o anormal.

Después de la menopausia, el número de lactobacilos disminuye de nuevo y se restablece una flora mixta. La flora vaginal normal comprende estreptococos del grupo B hasta en 25% de las mujeres en edad reproductiva. Durante el parto, el producto puede adquirir el estreptococo del grupo B, que luego podría generar septicemia neonatal y meningitis. La flora vaginal normal también comprende con frecuencia estreptococo α-hemolítico, estreptococos anaerobios (peptoestreptococos), especies de *Prevotella,* clostridios, *Gardnerella vaginalis, Ureaplasma urealyticum,* y en ocasiones especies de *Listeria* o *Mobiluncus.* El moco cervical posee actividad antibacteriana y contiene lisozimas. En algunas mujeres, el introito vaginal contiene una microflora abundante similar a la del periné y el área perineal. Quizá este es un factor predisponente en las infecciones urinarias recurrentes. Los microorganismos vaginales en el momento del parto infectan en ocasiones al recién nacido (p. ej., estreptococo del grupo B).

MICROBIOTA NORMAL DE LA CONJUNTIVA

Los microorganismos que predominan en la conjuntiva son difteroides, *S. epidermidis* y estreptococos no hemolíticos. Con frecuencia también existen *Neisseria* y bacilos gramnegativos similares a *Haemophilus* (especies de *Moraxella*). La microflora conjuntival normalmente es regulada por la circulación de lágrimas, que contienen lisozima antibacteriana.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La microbiota normal consta de la población de microorganismos que habitan la piel y mucosas de las personas sanas. La microbiota normal proporciona una primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos, ayudan a la digestión y contribuyen a la maduración del sistema inmunitario.
- La piel y mucosas albergan constantemente gran variedad de microorganismos que se dividen en 1) microbiota natural, que comprende variedades fijas de microorganismos encontrados en determinada región a determinada edad y que, si se alteran, se restablecen de inmediato por sí solas y 2) microbiota transitoria, que comprende microorganismos apatógenos o potencialmente patógenos que habitan la piel y mucosas durante varias horas, días o semanas.
- Las diversas regiones de la piel o mucosas son ambientes particulares con una microbiota característica.
- Los resultados del *Human Microbiome Project* revelan que la microbiota es mucho más compleja de lo que se pensaba.
- La placa bacteriana es una biopelícula compleja formada por microbiota normal. El metabolismo de los carbohidratos que realizan los microorganismos de la placa bacteriana como *Streptococcus mutans* es la causa de las caries.
- En el colon se han identificado más de 500 especies de bacterias. El número de anaerobios es mil veces mayor que el de microorganismos facultativos en el colon.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 26 años de edad acude con su médico por una secreción vaginal anormal. En la exploración física el médico observa una secreción homogénea, poco espesa y de color blanco grisácea adherida a la pared vaginal. El pH de la secreción es de 5.5 (normal: < 4.3). En la tinción de Gram se observan numerosas células epiteliales cubiertas por bacilos gram-variables. Se diagnostica vaginosis bacteriana. ¿Cuál de los microorganismos que forman parte normal de la flora genital disminuye en forma considerable en la vaginosis bacteriana?
   (A) Especies de *Corynebacterium*
   (B) *Staphylococcus epidermidis*
   (C) Especies de *Prevotella*
   (D) *Candida albicans*
   (E) Especies de *Lactobacillus*
2. Algunos microorganismos no se consideran miembros de la microflora normal. Siempre se les considera patógenos. ¿Cuál de los siguientes microorganismos pertenece a esta categoría?
   (A) *Streptococcus pneumoniae*
   (B) *Escherichia coli*
   (C) *Mycobacterium tuberculosis*
   (D) *Staphylococcus aureus*
   (E) *Neisseria meningitidis*
3. Una niña de nueve años de edad presenta fiebre y dolor intenso en el lado derecho de la tráquea. En la exploración física se observa enrojecimiento y edema del área periamigdalina derecha. Se diagnostica un absceso periamigdalino. Los microorganismos que probablemente se cultivarán son:
   (A) *S. aureus*
   (B) *S. pneumoniae*
   (C) Especies de *Corynebacterium* y *Prevotella melaninogenica*
   (D) Microflora bucal y nasal normal
   (E) Estreptococo viridans y *Candida albicans*
4. Un varón de 70 años de edad con antecedente de diverticulosis del colon sigmoides sufre repentinamente dolor abdominal en el cuadrante inferior izquierdo. Se acompaña de fiebre. El dolor cede gradualmente y es sustituido por un dolor sordo constante y dolor abdominal a la palpación. Se establece el diagnóstico de probable divertículo roto y el paciente es llevado al quirófano. Se confirma el diagnóstico de divertículo roto y se encuentra un absceso cerca del colon sigmoides. La bacteria más probable en el absceso es:
   (A) Flora gastrointestinal normal mixta
   (B) Sólo *Bacteroides fragilis*
   (C) Sólo *E. coli*
   (D) Sólo *Clostridium perfringens*
   (E) Sólo especies de *Enterococcus*
5. El tratamiento antimicrobiano reduce la cantidad de flora intestinal sensible y permite la proliferación de flora del colon relativamente resistente. ¿Cuál de las siguientes especies puede proliferar y producir una toxina que causa diarrea?
   (A) Especies de *Enterococcus*
   (B) *S. epidermidis*
   (C) *Pseudomonas aeruginosa*
   (D) *Clostridium difficile*
   (E) *B. fragilis*
6. ¿Cuál de los siguientes microorganismos puede formar parte de la microflora vaginal normal y causar meningitis en el recién nacido?
   (A) *C. albicans*
   (B) Especies de *Corynebacterium*
   (C) *S. epidermidis*
   (D) *Ureaplasma urealyticum*
   (E) Estreptococo del grupo B
7. ¿La placa bacteriana y la enfermedad periodontal se pueden considerar como un continuo de qué tipo de procesos fisiológico?
   (A) Formación de biopelícula
   (B) Envejecimiento normal
   (C) Digestión anormal
   (D) Respuesta inmunitaria exagerada
   (E) Goma de mascar
8. ¿Cuál de los siguientes microorganismos se encuentra muy relacionado con la caries dental?
   (A) *C. albicans*
   (B) *Streptococcus mutans*
   (C) *P. melaninogenica*
   (D) *Neisseria subflava*
   (E) *S. epidermidis*
9. El colon sigmoides contiene bacterias anaerobias como *B. fragilis* en una concentración aproximada de 10^{11}/g de heces fecales. ¿A qué concentración aparecen microorganismos facultativos como *E. coli*?
   (A) 10^{11}/g
   (B) 10^{10}/g
   (C) 10^{9}/g
   (D) 10^{8}/g
   (E) 10^{7}/g
10. *Streptococcus pneumoniae* forma parte de la microflora normal de 5 a 40% de las personas. ¿En qué sitio anatómico se puede encontrar?
    (A) Conjuntiva
    (B) Nasofaringe
    (C) Colon

(D) Uretra
(E) Vagina

11. Se han identificado cientos de filotipos en el estómago humano; sin embargo, el único microorganismo que se ha demostrado que persiste es:
    (A) *Lactobacillus casei*
    (B) *Lactobacillus acidophilus*
    (C) *E. coli*
    (D) *Helicobacter pylori*
    (E) *Bifidobacteria*
12. Existe flora residente normalmente en:
    (A) Hígado
    (B) Uretra
    (C) Riñones
    (D) Glándulas salivales
    (E) Vesícula biliar
13. No existe microflora natural en:
    (A) Faringe
    (B) Pulmones
    (C) Intestino delgado
    (D) Líquido sinovial
    (E) Conjuntiva
14. Una mujer de 65 años de edad fue hospitalizada con carcinoma epidermoide de cuello uterino. Fue sometida a una cirugía ginecológica extensa y durante el posoperatorio se le administraron antibióticos de amplio espectro por vía intravenosa. El día de la cirugía se colocó un catéter venoso central a la paciente. Desde el tercer día del posoperatorio la paciente empezó con fiebre. Al octavo día se obtuvieron muestras para hemocultivo y de la punta del catéter central que demostraron microorganismos grampositivos con forma ovoide y que se reproducían por gemación. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa más probable del problema de la paciente?
    (A) *S. aureus*
    (B) *S. epidermidis*
    (C) *Enterococcus faecalis*
    (D) *C. albicans*
    (E) *Saccharomyces cerevisae*
15. La vía de entrada más probable del microorganismo de la pregunta 14 es:
    (A) Durante la cirugía ginecológica
    (B) Aspiración
    (C) Durante la colocación del catéter central
    (D) Durante la colocación del catéter IV para administrar antibióticos
    (E) Intubación bajo anestesia

Respuestas

1. E	5. D	9. D	13. D
2. C	6. E	10. B	14. D
3. D	7. A	11. D	15. C
4. A	8. B	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Costello EK, Lauber CL, Hamady M, *et al.*: Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science* 2009;326:1694.

Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA: The pervasive affects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008;6:2383.

Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, *et al.*: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:11971.

Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV: Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity* 2009;31:368.

Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R: The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17994.

Fredericks DN, Fielder TL, Marrazzo JM: Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2005;353:1899.

Grice EA, Segre JA: The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:244.

Iwase T, Uehara Y, Shinji H, *et al.*: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010;465:346.

Kelly CD, DeLeon L, Jasutkar N: Fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection in 26 patients: Methodology and results. *J Clin Gastroenterol* 2012;46:145.

Khachatryan ZA, Ktsoyan ZA, Manukyan GP, *et al.*: Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota. *PLoS One* 2008;3:e3064.

Nasidze I, Li J, Quinque D, *et al.*: Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res* 2009;19:636.

Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN: Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl Env Microbiol* 2008;74:4898.

O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006;7:688.

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, *et al.*: Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007;5:1556.

Price LB, Liu CM, Johnson KE, *et al.*: The effects of circumcision on the penis microbiome. *PLoS One* 2010;5:e8422.

Proctor LM: The human microbiome project in 2011 and beyond. *Cell Host Microb* 2011;10:287.

Ravel J, Gajer P, Abdo Z, *et al.*: Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:4680.

Seekatz AM, Aas J, Gessert CE, *et al.*: Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation. *mBio* 2014;5(3):e00893-14, doi:10.1128/mBio.00893-14.

Spor A, Koren O, Ley R: Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:279.

The Human Microbiome Project Consortium: Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012;486:207.

Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006;137(Suppl):10S-15S.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, *et al.*: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027.

Walter J, Ley R: The human gut microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:411.

Willing BP, Russell SL, Finlay BB: Shifting the balance: Antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:233.

Bacilos grampositivos formadores de esporas: *Bacillus* y *Clostridium*

CAPÍTULO 11

Los bacilos grampositivos formadores de esporas son bacterias de los géneros de *Bacillus* y *Clostridium*. Estos bacilos son universales y, debido a su capacidad para formar esporas, pueden vivir en el ambiente por varios años. Los géneros de *Bacillus* son aerobio y, los de *Clostridium* son anaerobio (capítulo 21).

De las muchas especies de *Bacillus* y géneros afines que aún no se han clasificado bien en la microbiología médica, la mayoría no causa enfermedades. Sin embargo, existen algunas especies que generan enfermedades importantes en seres humanos. *Bacillus anthracis* origina el carbunco, enfermedad clásica en la historia de la microbiología; este padecimiento sigue siendo importante en animales y, en ocasiones, en seres humanos. Debido a sus toxinas tan potentes, *B. anthracis* es un microorganismo potencialmente importante para el bioterrorismo y la guerra biológica. *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis* causan intoxicación alimentaria y a veces infecciones oculares y de otro tipo.

El género *Clostridium* es en extremo heterogéneo y se han descrito más de 200 especies. La lista de microorganismos patógenos ha seguido creciendo y las cepas más recientes obtenidas de heces fecales humanas tienen un potencial patógeno que aún no se ha establecido. Los clostridios causan diversas e importantes enfermedades mediadas por toxina, incluidas tétanos (*Clostridium tetani*), botulismo (*Clostridium botulinum*), gangrena gaseosa (*Clostridium perfringens*) y diarrea vinculada con antibióticos y colitis seudomembranosa (*Clostridium difficile*). También se conocen otros clostridios en las infecciones anaerobias mixtas que afectan al ser humano (capítulo 21).

BACILLUS

Este género incluye aerobios grandes: bacilos grampositivos que se organizan en cadenas. Los miembros de este género tienen relación estrecha, pero difieren tanto desde una perspectiva fenotípica como en términos de patogenia. Las especies patógenas tienen plásmidos de virulencia. La mayor parte de los miembros de este género es saprófita y vive en la tierra, el agua y el aire, así como en la vegetación (p. ej., *Bacillus subtilis*). Algunos son patógenos para los insectos, como *B. thuringiensis*. Este microorganismo también afecta al ser humano. *B. cereus* se reproduce en los alimentos y da lugar a una intoxicación alimentaria al producir una enterotoxina (diarrea) o una toxina emética (vómito). A veces, tanto *B. cereus* como *B. thuringiensis* pueden generar entidades patológicas en pacientes inmunodeprimidos (p. ej., meningitis, endocarditis, endoftalmitis, conjuntivitis o gastroenteritis aguda). *B. anthracis,* que causa el **carbunco**, es el principal microorganismo patógeno del género.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las células típicas miden 1 × 3 a 4 μm, poseen extremos cuadrados y se disponen en forma de cadenas largas; las esporas se ubican en el centro de los bacilos.

B. Cultivo

Las colonias de *B. anthracis* son redondas y tienen aspecto de "vidrio esmerilado" bajo la luz. La hemólisis es inusual con *B. anthracis,* pero frecuente con *B. cereus* y los bacilos saprófitos. Las colonias disuelven la gelatina y su crecimiento en los cultivos en agar mediante inoculación con aguja es similar a un abeto invertido.

C. Características de crecimiento

Los bacilos saprófitos utilizan fuentes simples de nitrógeno y carbono para obtener energía y proliferar. Las esporas son resistentes a los cambios ambientales, soportan el calor seco y algunos desinfectantes químicos durante periodos breves y persisten varios años en la tierra seca. Los productos animales contaminados con esporas de carbunco (p. ej., piel, cerdas, pelo, lana, hueso) se pueden esterilizar con autoclave.

BACILLUS ANTHRACIS

Patogenia

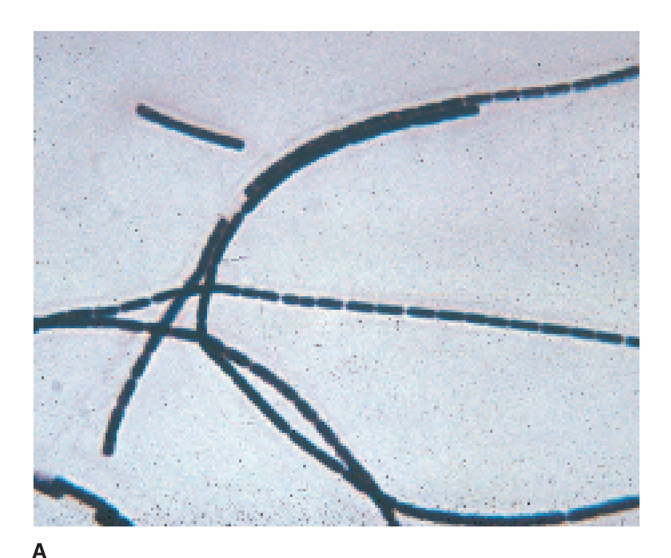
El carbunco es sobre todo una enfermedad de los herbívoros: cabras, ovejas, ganado vacuno, caballos, etc.; los demás animales (p. ej., ratas) son relativamente resistentes a la infección. El carbunco es endémico entre las sociedades agrícolas de los países desarrollados en África, Medio Oriente y América Central. La Organización Mundial de la Salud tiene un sitio en internet que proporciona información actualizada sobre esta enfermedad en animales y se menciona en las referencias de este capítulo. El ser humano se infecta de manera incidental al tener contacto con los animales o sus productos infectados. En animales, la vía de entrada es la boca y el aparato digestivo. Las esporas provenientes de la tierra contaminada penetran con facilidad cuando se ingieren con plantas espinosas o irritantes. En las personas, la infección casi siempre se adquiere cuando las esporas penetran a través de la piel lesionada (carbunco cutáneo) o rara vez por las mucosas (carbunco del tubo

apter 11_Carroll_4R.indd 179 14/04/16

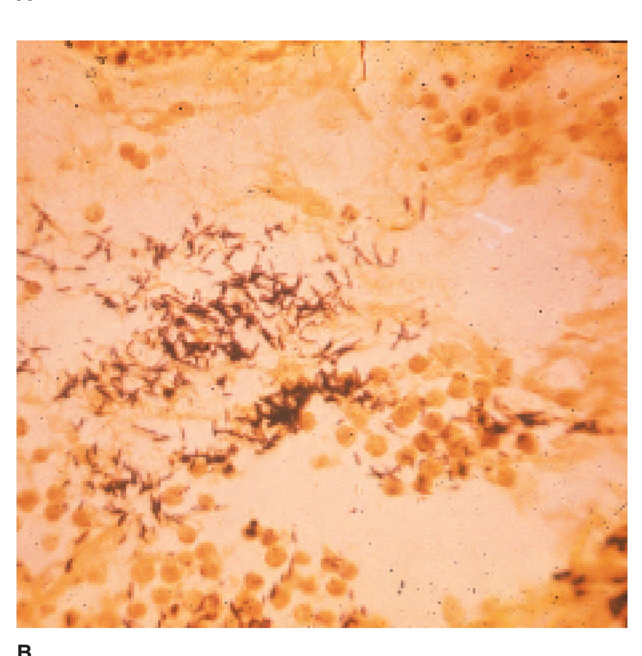
digestivo) o por la entrada de las esporas hacia los pulmones (carbunco por inhalación). Una cuarta categoría de la enfermedad, el carbunco por inyección, ha afectado a personas que se inyectan heroína contaminada con esporas de carbunco. Estas últimas germinan en el tejido del sitio de entrada y la proliferación de los microorganismos vegetativos tiene como resultado la formación de edema gelatinoso y congestión. Los bacilos se extienden a través de los vasos linfáticos hasta la circulación sanguínea y se multiplican libremente en la sangre y los tejidos poco antes y después de la muerte del animal.

El *B. anthracis* aislado (figura 11-1) que no produce una cápsula no son virulentas y tampoco causan carbunco en animales de laboratorio. La cápsula de ácido poli-γ-D-glutámico es antifagocítica. El gen de la cápsula se ubica en el plásmido pXO2.

La toxina del carbunco consta de tres proteínas: antígeno protector (PA, *protective antigen*), factor de edema (EF, *edema factor*) y factor letal (LF, *lethal factor*). El PA se fija a determinados receptores celulares y después de su activación forma un conducto de membrana que permite la entrada de EF y LF en la célula. El EF es una adenil ciclasa que, en combinación con el PA, forma una toxina conocida como toxina de edema. El LF con el PA constituyen la toxina letal, que corresponde al principal factor de virulencia y provoca la muerte de los animales y seres humanos infectados. Cuando se inyecta en animales de laboratorio (p. ej., en ratas), la toxina letal puede matarlos con rapidez al deteriorar tanto la inmunidad innata como la adaptativa, de manera que permite la proliferación de microorganismos y la muerte celular. Los genes de la toxina del carbunco se ubican en otro plásmido, PXO1. En el carbunco pulmonar (enfermedad del esquilador de ovejas), se inhalan las esporas provenientes de la pelusa de la lana, el pelo o la piel, se depositan en los alveolos y son fagocitadas por los macrófagos, luego se transportan por los conductos linfáticos hasta los ganglios linfáticos mediastínicos, donde germinan. Después hay producción de toxinas, lo cual genera mediastinitis hemorrágica y septicemia, que por lo general provocan la muerte con prontitud. En la septicemia por carbunco, el número de microorganismos en la sangre excede 10^7/ml poco antes del fallecimiento. En el brote de carbunco pulmonar de Sverdlovsk en 1979 y en los casos de inhalación por bioterrorismo en el 2001, la patogenia fue similar a la del carbunco por inhalación de productos animales.



A



B

FIGURA 11-1 **A:** *Bacillus anthracis* en caldo de cultivo (amplificación original ×1 000). **B:** En tejido (amplificación original ×400) (Cortesía de PS Brachman).

Patología

En animales y seres humanos susceptibles, los microorganismos proliferan en el sitio de entrada. Las cápsulas permanecen íntegras y los microorganismos se rodean de gran cantidad de líquido proteináceo que contiene unos cuantos leucocitos, a partir de los cuales se diseminan con rapidez y alcanzan la circulación sanguínea.

En los animales resistentes, los microorganismos proliferan durante unas cuantas horas y en ese lapso hay una acumulación masiva de leucocitos. Las cápsulas se desintegran y desaparecen de forma gradual. Los microorganismos permanecen circunscritos.

Manifestaciones clínicas

En el ser humano, cerca de 95% de los casos corresponde a carbunco cutáneo y 5% a carbunco pulmonar. El carbunco del tubo digestivo (ántrax de td) es poco común; sólo se ha descrito en África, Asia y Estados Unidos cuando las personas han consumido carne de animales infectados.

Los episodios bioterroristas ocurridos en otoño del 2001 tuvieron como resultado 22 casos de carbunco: 11 por inhalación y 11 cutáneos. Cinco pacientes con la variedad inhalada murieron; todos los demás sobrevivieron.

El carbunco cutáneo casi siempre aparece en superficies expuestas de brazos o manos, seguidas, en orden de frecuencia, de cara y cuello. Entre uno y siete días después de la penetración de microorganismos o esporas a través de un rasguño, aparece una pápula pruriginosa. Al principio ésta es similar a la mordedura de un insecto. Sin embargo, la pápula se transforma muy pronto en vesícula o un anillo pequeño de vesículas que se unen formando una úlcera necrótica. Las lesiones miden entre 1 y 3 cm de diámetro y poseen una escara negra central

característica. Se acompañan de edema pronunciado. Algunas veces también existe linfangitis y linfadenopatía, además de signos y síntomas generales, como fiebre, malestar general y cefalea. Después de 7 a 10 días, la escara alcanza su máximo desarrollo. Por último se seca, debilita y desprende. La cicatrización se lleva a cabo por granulación y deja una cicatriz. Algunas veces la lesión tarda varias semanas en cicatrizar y el edema el mismo tiempo en desaparecer. Al parecer la antibioticoterapia no modifica la evolución natural de la enfermedad, pero previene su diseminación. Hasta en 20% de los pacientes, el carbunco cutáneo genera septicemia, las consecuencias de una infección generalizada, incluida meningitis, y la muerte.

El periodo de incubación del carbunco pulmonar puede ser hasta de seis semanas. Las primeras manifestaciones clínicas son las de necrosis hemorrágica pronunciada y edema mediastínico. Algunas veces predomina el dolor retroesternal y se acompaña de ensanchamiento pronunciado del mediastino en la radiografía de tórax. Una vez que se extiende a la pleura, aparecen derrames pleurales hemorrágicos; la tos es secundaria a sus efectos sobre la tráquea. Lo siguiente es la septicemia, con diseminación del micoorganismo por vía hematógena hacia el aparato digestivo, lo cual provoca úlceras intestinales, o hacia las meninges, situación que causa meningitis hemorrágica. La mortalidad del carbunco pulmonar es alta cuando ha existido un contacto previo; es mayor si el diagnóstico no se sospecha desde el principio.

Los animales adquieren el carbunco al ingerir esporas y la diseminación ulterior está dada por los microorganismos desde el aparato digestivo. Esto es inusual en el ser humano y el carbunco del tubo digestivo es muy poco frecuente. Algunos signos clínicos abarcan dolor abdominal, vómito y diarrea hemorrágica.

El carbunco por inyección se caracteriza por edema extenso, indoloro, subcutáneo y ausencia notable de las costras clásicas del carbunco cutáneo. Los pacientes pueden evolucionar a inestabilidad hemodinámica debido a la septicemia.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras que se examinan son líquido o pus de las lesiones locales, sangre, y líquidos pleural y cefalorraquídeo en el carbunco pulmonar, acompañados de septicemia y heces fecales u otros contenidos intestinales en el caso del carbunco digestivo. Los frotis teñidos de la lesión circunscrita o la sangre de animales muertos a menudo muestran cadenas de grandes bacilos grampositivos. El carbunco se identifica en frotis secos por medio de técnicas de tinción inmunofluorescente.

Cuando se cultivan en placas de agar sangre, los microorganismos producen colonias no hemolíticas de color gris o blanco, con una textura rugosa y aspecto de vidrio esmerilado. Algunas veces producen prolongaciones con forma de coma ("cabeza de Medusa") en la colonia. Para demostrar la presencia de una cápsula es necesario cultivarlas en un medio de cultivo con bicarbonato en dióxido de carbono al 5 a 7%. La tinción de Gram permite observar los bacilos grampositivos grandes. La fermentación de carbohidratos es inútil. En medio semisólido, los bacilos del carbunco son inmóviles mientras que los microorganismos afines (p. ej., *B. cereus*) presentan movilidad por "amontonamiento". Cuando un laboratorio clínico obtiene bacilos grampositivos grandes en sangre, líquido cefalorraquídeo o lesiones cutáneas sospechosas, cuyo fenotipo concuerda con la descripción de *B. anthracis,* es necesario ponerse en contacto de inmediato con el laboratorio de salud pública y enviar el microorganismo para su confirmación. La identificación definitiva requiere de lisis con un bacteriófago-γ específico para carbunco, detección de la cápsula por medio de anticuerpos fluorescentes o identificación de los genes de la toxina por medio de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*). Estas pruebas se realizan en casi todos los laboratorios de salud pública.

La *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos diseñó un enzimoinmunoanálisis (ELISA, *enzyme–linked immunoassay*) para medir los anticuerpos totales contra el PA, pero el resultado no es positivo al principio de la enfermedad.

Resistencia e inmunidad

La vacunación para prevenir el carbunco se basa en los experimentos clásicos de Louis Pasteur. En 1881, este científico demostró que los cultivos en caldo de 42 a 52 °C, durante varios meses, pierden gran parte de su virulencia y se pueden inyectar en ganado vacuno o bovino sin generar la enfermedad. Tiempo después se comprobó que estos animales eran inmunes. También es posible inducir inmunidad activa al carbunco en animales susceptibles al vacunarlos con bacilos vivos atenuados, suspensiones de esporas o PA proveniente de filtrados de cultivos. Los animales que pastan en zonas donde se sabe que prevalece el carbunco deben vacunarse cada año.

En Estados Unidos, la vacuna aprobada por la FDA (vacuna adsorbida contra carbunco [AVA, *anthrax vaccine adsorbed*]) se elabora con sobrenadante de un cultivo de células libres de una cepa no encapsulada pero toxígena de *B. anthracis,* que contiene PA adsorbido a hidróxido de aluminio. La posología es de 0.5 ml administrados por vía intramuscular las semanas 0 y 4, y después a los seis, 12 y 18 meses seguidos de refuerzos anuales. Esta vacuna se encuentra disponible de forma exclusiva para el *Department of Defense* de Estados Unidos y para las personas con riesgo de tener contactos repetidos con *B. anthracis*. Dado que las vacunas actuales contra el carbunco proporcionan inmunidad de corta duración y, por lo tanto, se requieren vacunaciones repetidas, se ha perfeccionado una cantidad de vacunas con PA recombinante (rPA, *recombinant PA*) nuevas. Se ha demostrado que dichas vacunas novedosas se toleran bien y tienen alta inmunogenicidad (véase descripción en Tratamiento).

Tratamiento

En seres humanos, muchos antibióticos son eficaces para tratar el carbunco pero deben iniciarse cuanto antes. Para este último, se recomienda ciprofloxacina; otros fármacos con actividad incluyen penicilina G, desoxiciclina, eritromicina y vancomicina. En el contexto de la exposición potencial a *B. anthracis* como un arma de guerra biológica, la profilaxia con ciprofloxacina o doxiciclina debe administrarse durante 60 días y tres dosis de AVA.

La FDA aprobó el raxibacumab, un anticuerpo monoclonal recombinante de ser humano, a finales de 2012 para tratamiento y profilaxia contra el carbunco pulmonar. El

mecanismo de acción es impedir la unión de PA a sus receptores en células hospedadoras. El fármaco se utiliza en combinación con los antibióticos apropiados.

La FDA no ha aprobado la inmunoglobulina intravenosa del carbunco (AIGIV, *anthrax immune globulin intravenous*), pero quizá se encuentre disponible en los *Centers for Disease Control and Prevention*. La AIGIV es un antisuero policlonal humano que también inhibe la unión de PA a sus receptores. Como el raxibacumab, se utiliza combinada con antimicrobianos para tratar formas de carbunco grave.

Epidemiología, prevención y control

La tierra se contamina con esporas de carbunco provenientes de los cuerpos de animales muertos. Estas esporas permanecen viables por varias décadas. Las esporas germinan en la tierra a un pH de 6.5 cuando la temperatura es adecuada. Los animales que pastan y que se infectan a través de las mucosas lesionadas sirven para perpetuar la cadena de infección. El contacto con animales infectados o con su piel, pelo y cerdas constituye el origen de la enfermedad en el ser humano. Algunas medidas de control son: 1) eliminación de los cadáveres de animales por cremación o al enterrarlos en pozos de cal profundos; 2) descontaminación (casi siempre por medio de autoclave) de los productos animales; 3) uso de ropa protectora y guantes al manipular materiales con posibilidad de estar infectados, y 4) inmunización de animales domésticos con vacunas de bacilos vivos atenuados. Las personas con un riesgo laboral alto deben vacunarse.

BACILLUS CEREUS

La intoxicación alimenticia por *B. cereus* es de dos tipos: la variedad emética, desencadenada por ingerir arroz frito, y la modalidad diarreica, por ingerir platillos con carne y salsas. *B. cereus* produce toxinas que generan una enfermedad que es más una intoxicación que una infección transmitida por los alimentos. La variedad emética se manifiesta por náusea, vómito, cólicos abdominales y, en ocasiones, diarrea, y remite de manera espontánea con recuperación dentro de las primeras 24 h. Esta modalidad empieza entre 1 y 5 h después de ingerir arroz y algunas veces platillos a base de pasta. *B. cereus* es un microorganismo de la tierra que contamina con frecuencia el arroz. Cuando se cocinan grandes cantidades de este grano y se dejan enfriar con lentitud, las esporas de *B. cereus* germinan y las células vegetativas producen la toxina durante la fase de proliferación logarítmica o en el curso de la esporulación. El periodo de incubación de la variedad diarreica es de 1 a 24 h y se manifiesta por diarrea abundante con dolor y cólicos abdominales; rara vez se acompaña de fiebre y vómito. En este síndrome, las esporas ingeridas que se desarrollan en células vegetativas de *B. cereus* secretan una de tres enterotoxinas posibles que causan acumulación de líquido y otras respuestas fisiológicas en el intestino delgado. La presencia de *B. cereus* en las heces del paciente no es suficiente para establecer un diagnóstico de enfermedad por *B. cereus* debido a que las bacterias pueden presentarse en muestras normales de heces, una concentración de 10^5 bacterias o más por gramo de alimento se considera diagnóstica.

B. cereus es una causa importante de infecciones oculares, como la queratitis grave y la endoftalmitis. Los microorganismos se introducen de manera típica en el ojo mediante cuerpos extraños relacionados con traumatismos, aunque las infecciones también surgen después de una cirugía. Asimismo, *B. cereus* se ha vinculado con infecciones circunscritas, como las de heridas, y con infecciones sistémicas, incluidas endocarditis, bacteriemia asociada con catéter, infecciones del sistema nervioso central, osteomielitis y neumonía; la presencia de un dispositivo médico o el uso de fármaco intravenoso predispone a tales infecciones. Se han informado brotes de bacteriemia en unidades de cuidados intensivos neonatales y otras unidades hospitalarias durante su construcción en instalaciones de atención de la salud. *B. cereus* es resistente a diversos antibióticos, incluidas penicilinas y cefalosporinas. Las infecciones graves que no se transmiten por alimentos deben tratarse con vancomicina o clindamicina con o sin un aminoglucósido. La ciprofloxacina ha sido útil en las infecciones de heridas.

Verificación de conceptos

- El género de *Bacillus* constituye un grupo grande de microorganismos saprófitos, aerobios y formadores de esporas que habitan en la tierra.
- El principal agente patógeno del género *Bacillus* es *B. anthracis,* microorganismo virulento y tóxico de gran importancia histórica.
- El ser humano se infecta a partir de las esporas inoculadas por el contacto con animales o productos animales, como pieles.
- *B. anthracis* es la causa de tres categorías de enfermedades en el ser humano, según sea la vía de entrada de las esporas: cutánea (95%), pulmonar (5%) y digestiva (rara).
- El PA se combina con dos factores, el EF y el LF, para formar toxinas poderosas, la del edema y la letal, respectivamente, las cuales poseen efectos tanto citotóxicos como inmunomoduladores. Estas toxinas son las causas del edema, la destrucción de los tejidos y la hemorragia característica del carbunco.
- *B. cereus* y *B. thuringiensis* producen intoxicación alimentaria e infecciones oportunistas en los pacientes con inmunodepresión.
- *B. cereus* se puede distinguir de *B. anthracis* con base en las características morfológicas de la colonia, la hemólisis β, la motilidad y los patrones de susceptibilidad antimicrobiana.

CLOSTRIDIUM

Los clostridios son grandes bacilos anaerobios, grampositivos, móviles. Muchos de ellos descomponen proteínas o forman toxinas y algunos llevan a cabo ambas acciones. Su hábitat es la tierra o el intestino de animales y seres humanos, donde viven como saprófitos. El número de especies nuevas de clostridios descubiertas continúa en aumento; varias especies se han secuenciado. Hay 19 conglomerados basados en análisis de secuencia génica de 16SrRNA. La mayor parte de las especies relacionadas desde el punto de vista clínico están en el conglomerado I de RNA. Algunos de los clostridios patógenos son los

que generan **botulismo**, **tétanos**, **gangrena gaseosa** y **colitis seudomembranosa**.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Por lo general, las esporas de los clostridios son más amplias que el diámetro de los bacilos a partir de los cuales se forman. En las diversas especies, la espora tiene una ubicación central, subterminal o terminal. La mayor parte de los clostridios es móvil y posee flagelos perítricos. En la figura 11-2, se muestran clostridios con esporas terminales.

B. Cultivo

Los clostridios son anaerobios y proliferan en un ambiente anaerobio; muy pocas especies son aerotolerantes y crecen en el aire ambiental. En el capítulo 21, se describen las características del cultivo anaerobio. En general, los clostridios crecen mejor en medios enriquecidos con sangre u otras sustancias utilizadas para cultivar anaerobios.

C. Formas de colonias

Algunos clostridios producen grandes colonias en relieve (p. ej., *C. perfringens*); otros generan colonias más pequeñas (p. ej., *C. tetani*). Ciertos clostridios forman colonias que se diseminan en la superficie de agar (*Clostridium septicum*). Muchos clostridios producen una zona de hemólisis β en agar sangre. *C. perfringens* da origen a una zona doble característica de la hemólisis β alrededor de las colonias.

D. Características de crecimiento

Los clostridios pueden fermentar diversos carbohidratos (sacarolíticos) y muchos pueden digerir proteínas (proteolíticos); algunas especies tienen ambas propiedades. Tales características metabólicas se utilizan para dividirlos en grupos. Unos tornan ácida la leche, otros la digieren y un tercer grupo le provoca la llamada "fermentación turbulenta" al romper grumos con gas (p. ej., *C. perfringens*). Diferentes especies producen varias enzimas. *Clostridium* genera más toxinas que cualquier otro grupo de bacterias (véase más adelante).

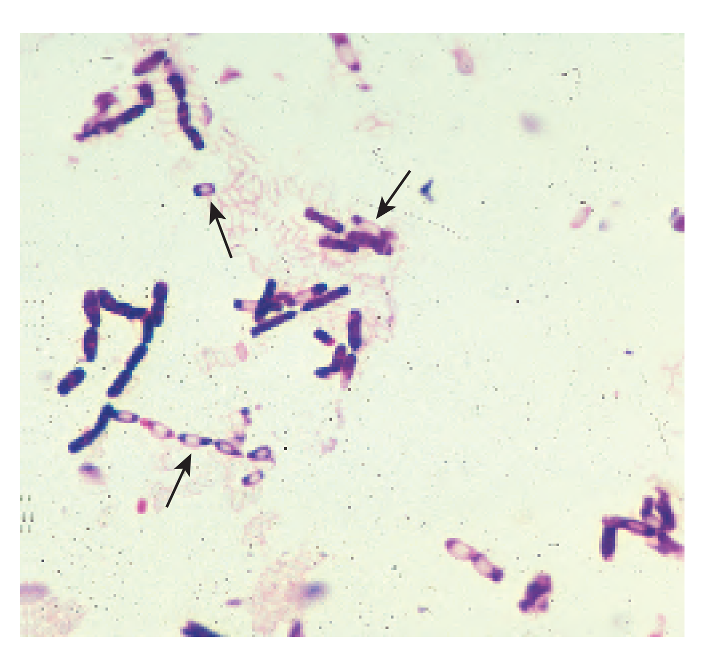


FIGURA 11-2 Tinción de Gram de *Clostridium*. Se observan algunos bacilos grampositivos. Muchos de ellos forman cadenas. Algunos tienen esporas que no se tiñen o adquieren forma ovalada y son transparentes (*flechas*).

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

Este microorganismo, que causa el **botulismo**, tiene una distribución mundial. Habita en la tierra y, a veces, en las heces fecales de algunos animales.

Las variedades de *C. botulinum* se distinguen por el tipo antigénico de la toxina que producen. Las esporas de este microorganismo son muy resistentes al calor y soportan hasta 100 °C durante varias horas. Su termorresistencia disminuye con un pH ácido o una concentración alta de sal.

Toxinas

Durante la proliferación de *C. botulinum* y en la autólisis de la bacteria, se liberan toxinas hacia el ambiente. Se conocen siete variedades antigénicas de la toxina (serotipos A-G). Las principales causas de enfermedad en el ser humano son los tipos A, B, E y F. Las variedades A y B se han vinculado con gran diversidad de alimentos y, el tipo E, principalmente con los productos de la pesca. El tipo C es el botulismo de las aves; el tipo D causa botulismo en mamíferos. La variedad G no es patógena. Las toxinas botulínicas tienen tres dominios. Dos de ellos facilitan la unión y el ingreso de la toxina a la célula nerviosa. El tercer dominio es la toxina constituida por una proteína de 150 kDa que se fractura en una cadena pesada (H, 100 kDa) y una cadena ligera (L, 50 kDa), unidas por un enlace disulfuro. La toxina botulínica se absorbe del intestino, entra en la circulación sanguínea y se une a receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras del sistema nervioso periférico y los pares craneales. No cruza la barrera hematoencefálica ni afecta el sistema nervioso central. La proteólisis (por la cadena L de la toxina botulínica) de las proteínas destinatarias de SNARE (proteína de unión del factor sensible a la N-etilmaleimida soluble), en las neuronas, inhibe la liberación de acetilcolina en la sinapsis, lo cual resulta en ausencia de contracción muscular y en parálisis. Las proteínas de SNARE son sinaptobrevinas (también conocidas como proteínas de membrana asociadas a vesícula [VAMP, *vesicle-associated membrane protein*]), proteína de unión a NSF soluble 25 (SNAP, *soluble NSF attachment protein* 25) y sintaxina. Las toxinas de *C. botulinum* tipos A, C y E fracturan a la SNAP 25 de 25 000 kDa. La de tipo C también rompe la sintaxina. Las toxinas tipos B, D, F y G fracturan sólo a la sinaptobrevina. Las toxinas de *C. botulinum* se encuentran entre las sustancias más toxicas conocidas: la dosis letal para un ser humano es quizá de alrededor de 1 a 2 μg/kg. Las toxinas se destruyen con calor aplicado durante 20 min a 100 °C. Se ha demostrado que cepas raras de *Clostridium butyricum* y *Clostridium baratii* producen neurotoxina botulínica y causan botulismo en personas. Las cepas productoras de toxinas A, B o F se asocian con botulismo de la infancia. Rossetto *et al.*

(véase Referencias) proporcionan detalles adicionales sobre la producción y la función de la toxina.

Patogenia

Recientemente en Estados Unidos, el Reino Unido y Alemania, resurgió el botulismo relacionado con heridas por las toxinas tipo A o B y por la inyección en la piel de heroína de "alquitrán negro". Sin embargo, la mayor parte de los casos de botulismo se debe a intoxicación por el consumo de alimentos en los que *C. botulinum* se multiplicó y generó toxina. Las procedencias más frecuentes son alimentos alcalinos condimentados, ahumados, empacados al vacío o enlatados que se consumen sin cocinar. En esta comida, germinan las esporas de *C. botulinum*; en un ambiente anaerobio, las formas vegetativas proliferan y producen toxina.

En el botulismo infantil, el vehículo más frecuente de la infección es la miel. La patogenia difiere de la manera como el adulto contrae la enfermedad. El lactante ingiere las esporas de *C. botulinum* (o *C. butyricum* o *C. baratii*) y las esporas germinan en el intestino. Las células vegetativas producen toxinas conforme se multiplican y la neurotoxina se absorbe hacia la circulación.

En casos raros, los adultos con malformaciones gastrointestinales o trastornos funcionales pueden contraer "botulismo de la infancia".

El botulismo por heridas resulta de la contaminación de tejido con esporas y se observa sobre todo en usuarios de drogas inyectables. Es muy infrecuente el botulismo pulmonar cuando la toxina ingresa por vías respiratorias.

La toxina actúa al bloquear la liberación de acetilcolina en las sinapsis y las uniones neuromusculares (véase la descripción anterior). El resultado es una parálisis flácida. Tanto la electromiografía como las pruebas de fuerza con edrofonio son típicas.

Manifestaciones clínicas

Los síntomas empiezan 18 a 24 h después de ingerir el alimento tóxico, con alteraciones visuales (falta de coordinación de los músculos oculares, diplopía), incapacidad para deglutir y dificultad para hablar. Los signos de parálisis bulbar son progresivos y la muerte es resultado de parálisis respiratoria o paro cardiaco. Los síntomas digestivos por lo general son irrelevantes. Tampoco hay fiebre. El paciente permanece consciente hasta poco antes de morir. La mortalidad es alta. Las personas que se recuperan no generan antitoxina en sangre.

En Estados Unidos, el botulismo infantil es tan frecuente o más que la variedad clásica de botulismo paralítico producido por la ingestión de alimentos contaminados con la toxina. En los primeros meses de vida, los lactantes manifiestan alimentación deficiente, debilidad y signos de parálisis (lactante hipotónico). En ocasiones, el botulismo infantil es causa de síndrome de muerte súbita infantil. *C. botulinum* y la toxina del botulismo se identifican en las heces fecales, pero no en el suero.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Los especialistas que sospechan un caso de botulismo deben establecer contacto con las autoridades de salud pública apropiadas antes de enviar muestas al laboratorio. El requisito para establecer el diagnóstico es la detección de la toxina y no del microorganismo. La presencia de la toxina a menudo puede demostrarse en suero, secreciones gástricas o heces del paciente y es posible descubrirla en los residuos de alimentos. Los palillos con puntas de algodón para uso clínico u otras muestras obtenidas del paciente deben transportarse mediante contenedores anaerobios. Hay que mantener en sus recipientes originales los alimentos presuntamente contaminados. Los ratones a los que se inyecta por vía intraperitoneal este tipo de muestras mueren con rapidez. La variedad antigénica de la toxina se identifica por medio de neutralización con una toxina específica en ratones. Este bioanálisis en ratones es la prueba de elección para confirmar el botulismo. *C. botulinum* se puede cultivar a partir de los restos del alimento para probar la producción de toxina, pero rara vez se lleva a cabo y su importancia es cuestionable. En el botulismo infantil, se puede demostrar la presencia de *C. botulinum* y la toxina en el contenido intestinal, pero no en el suero. Otros métodos utilizados para detectar la toxina son ELISA y PCR; esta última permite hallar microorganismos que son portadores del gen, pero no expresan la toxina.

Tratamiento

El tratamiento de sostén, en especial el cuidado intensivo, es fundamental en la atención de los pacientes con botulismo. La respiración adecuada debe mantenerse por ventilación mecánica si es necesario y, en casos graves, quizá sea necesario preservarla hasta por ocho semanas. Tales medidas han reducido la mortalidad de 65 a menos de 25%. En caballos, se han preparado antitoxinas potentes para tres tipos de botulismo. Dado que el tipo causal para un caso individual casi siempre se desconoce, la antitoxina trivalente (A, B, E) debe administrarse de manera expedita por vía intravenosa (IV) con las precauciones habituales. La antitoxina no revierte la parálisis, pero si se administra cuanto antes, puede evitar su avance. Aunque la mayoría de lactantes con botulismo se recupera sólo con apoyo, es recomendable proporcionar inmunoglobulina botulínica (BIG, *botulinum immune globulin*) derivada de ser humano.

Epidemiología, prevención y control

Puesto que las esporas de *C. botulinum* se distribuyen ampliamente en la tierra, a menudo contaminan vegetales, frutas y otros materiales. Hubo un gran brote generado en un restaurante cuya causa fue el consumo de cebollas salteadas. Cuando este tipo de alimento se enlata o conserva de otra manera, se debe calentar lo suficiente como para asegurar la destrucción de las esporas, o bien, se debe hervir 20 min antes de consumirlo. Los reglamentos estrictos para el enlatado comercial han reducido de forma considerable el peligro de los brotes, pero algunos alimentos comerciales han causado muertes. Uno de los factores de riesgo principales del botulismo son los alimentos enlatados en casa, en especial ejotes, maíz, pimientos, aceitunas, chícharos, pescado ahumado o pescado fresco empacado al vacío en bolsas de plástico. Algunas veces los alimentos tóxicos se encuentran descompuestos y rancios y las latas se "hinchan" o su aspecto parece inofensivo. El riesgo de los alimentos enlatados en el hogar se reduce si el alimento se hierve durante más de 20 min antes de su consumo.

La toxina botulínica se considera una sustancia muy importante para el bioterrorismo y la guerra biológica.

CLOSTRIDIUM TETANI

C. tetani, el agente causal del **tétanos**, tiene distribución mundial y se encuentra en la tierra y las heces fecales de los caballos y otros animales. Es posible distinguir varios tipos de este microorganismo por medio de antígenos flagelares específicos. Todos ellos comparten un antígeno O (somático), que puede estar enmascarado, y todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina: la tetanoespasmina.

Toxina

Las células vegetativas de *C. tetani* producen la toxina tetanoespasmina (150 kDa) que es fragmentada por una proteasa bacteriana hasta formar dos péptidos (50 y 100 kDa) unidos por un puente disulfuro. Al principio, la toxina se fija a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras. Luego emigran por el sistema de transporte axonal retrógrado hasta los cuerpos celulares de estas neuronas, la médula espinal y el tallo encefálico. El péptido más pequeño degrada la sinaptobrevina (también llamada VAMP2, véase antes en el apartado Toxina de *C. botulinum*), una proteína que se requiere para cercenar vesículas de neurotransmisor en la membrana presináptica. La liberación de la glicina inhibidora y GABA se bloquean, y las neuronas motoras no se inhiben. El resultado es hiperreflexia, espasmos musculares y parálisis espástica. Una cantidad mínima de toxina es letal para el ser humano.

Patogenia

C. tetani no es un microorganismo invasor. La infección permanece circunscrita en el área de tejido desvitalizado (herida, quemadura, lesión, muñón umbilical, sutura quirúrgica) donde se han introducido las esporas. El volumen del tejido infectado es pequeño y la enfermedad es casi por completo una toxemia. La germinación de la espora y la proliferación de microorganismos vegetativos que producen toxina se facilitan por: 1) el tejido necrótico; 2) las sales de calcio, y 3) otras infecciones piógenas concomitantes, todo lo cual ayuda al establecimiento de un potencial reducido de oxidorreducción.

La toxina liberada a partir de las células vegetativas llega al sistema nervioso central y se fija con rapidez a los receptores de la médula espinal y el tallo encefálico y lleva a cabo las acciones descritas.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación varía de cuatro a cinco días hasta varias semanas. La enfermedad se caracteriza por contracción tónica de los músculos voluntarios. Con frecuencia los espasmos musculares abarcan primero el área de la lesión e infección y, a continuación, los músculos de la mandíbula (trismo), se contraen de manera tal que es imposible abrir la boca. De modo gradual, se afectan otros músculos voluntarios, lo cual genera espasmos tónicos. Cualquier estímulo externo puede precipitar un espasmo muscular generalizado tetánico. El paciente se encuentra consciente y el dolor en ocasiones es intenso. La muerte casi siempre es secundaria a la interferencia con la mecánica de la respiración. La mortalidad por tétanos generalizado es muy alta.

Diagnóstico

El diagnóstico depende de las manifestaciones clínicas y el antecedente de una lesión, aunque sólo 50% de los pacientes con tétanos tiene una anomalía que le ha obligado a buscar atención médica. El diagnóstico diferencial principal del tétanos es la intoxicación con estricnina. El cultivo anaerobio del tejido tomado de la herida contaminada muestra algunas veces *C. tetani*, pero no se debe diferir la antitoxina preventiva o terapéutica en espera de esta demostración. La confirmación de *C. tetani* depende de la producción de toxina y su neutralización a través de una antitoxina específica.

Prevención y tratamiento

Los resultados del tratamiento del tétanos son poco convincentes. Por lo tanto, lo más importante es la prevención. La prevención del tétanos depende de: 1) vacunación activa con toxoide; 2) atención adecuada de las heridas contaminadas con tierra; 3) uso profiláctico de antitoxina, y 4) administración de penicilina.

La aplicación intramuscular de 250 a 500 U de antitoxina humana (inmunoglobulina tetánica) ofrece una protección generalizada adecuada (0.01 U/ml de suero o más) durante dos a cuatro semanas. Esto neutraliza a la toxina que no se ha fijado al tejido nervioso. La profilaxia con antitoxina se debe acompañar de vacunación activa con toxoide tetánico.

Los pacientes que manifiestan síntomas de tétanos deben recibir relajantes musculares, sedantes y respiración asistida. Algunas veces se les administran dosis muy altas de antitoxina (3 000 a 10 000 U de inmunoglobulina tetánica) por vía IV con el fin de neutralizar la toxina que no se ha fijado al tejido nervioso. Sin embargo, la eficacia de la antitoxina para el tratamiento es incierta con excepción del tétanos neonatal, en el cual muchas veces salva la vida.

La desbridación quirúrgica es indispensable puesto que elimina el tejido necrótico necesario para la proliferación del microorganismo. No se ha comprobado que el oxígeno hiperbárico sea de utilidad.

La penicilina inhibe con eficacia la proliferación de *C. tetani* y detiene la producción ulterior de toxina. Los antibióticos también ayudan a regular las infecciones piógenas concomitantes.

Cuando una persona previamente vacunada sufre una herida potencialmente peligrosa, se debe inyectar otra dosis de toxoide para estimular de nuevo la producción de antitoxina. Esta inyección de "recordatorio" de toxoide, se acompaña de una dosis de antitoxina cuando no se ha vacunado al paciente recientemente, no ha recibido refuerzos o si se desconocen las vacunas previas.

Control

El tétanos es una enfermedad por completo prevenible. La vacunación activa universal con toxoide tetánico debe ser obligatoria. Este último se produce mediante desintoxicación de

la toxina con formalina y luego concentrándola. Se utilizan toxoides adsorbidos con sales de aluminio. El régimen inicial de vacunación comprende tres inyecciones, seguidas de otra dosis alrededor de un año después. Todos los niños se deben vacunar por primera vez en el primer año de vida. Al ingresar a la escuela, se les debe administrar un "refuerzo". Posteriormente, los refuerzos se aplican cada 10 años para mantener una concentración sérica de antitoxina mayor de 0.01 U/ml. En niños pequeños, el toxoide tetánico suele combinarse con toxoide diftérico y vacuna acelular contra tos ferina.

Es imposible llevar a cabo medidas de control ambiental por la gran diseminación del microorganismo en la tierra y la supervivencia tan prolongada de sus esporas.

CLOSTRIDIOS QUE CAUSAN INFECCIONES INVASORAS

Numerosos clostridios productores de toxinas (*C. perfringens* y clostridios afines) (figura 11-3) causan infecciones invasoras (incluidas **mionecrosis** y **gangrena gaseosa**) cuando se introducen en el tejido lesionado. Casi 30 especies de clostridios tienen este efecto, pero la más frecuente en las enfermedades invasoras es *C. perfringens* (90%). Una causa común de intoxicación por alimentos es la enterotoxina de *C. perfringens.*

Toxinas

Los clostridios invasores producen gran variedad de toxinas y enzimas que permiten la diseminación de la infección. Muchas de estas toxinas tienen propiedades letales, necrosantes y hemolíticas. En ciertos casos, tales propiedades son distintas en una misma sustancia; en otros, éstas se pueden atribuir a diferentes entidades químicas. La toxina α de *C. perfringens* tipo A es una lecitinasa y su acción letal es directamente proporcional a la velocidad con la que fragmenta a la lecitina (componente importante en las membranas celulares) para generar fosforilcolina y diglicérido. La toxina α también produce agregación plaquetaria, de manera que propicia la formación de trombos en vasos sanguíneos pequeños, lo cual se suma al riego hístico deficiente y, por lo tanto, se amplían las consecuencias de la anaerobiosis, en particular, la destrucción de tejido viable (gangrena gaseosa). La toxina θ tiene efectos hemolíticos y necrosantes similares, pero no es una lecitinasa; es un miembro de las citolisinas dependientes de colesterol que actúan mediante formación de poros en las membranas celulares. La toxina ε es una proteína que causa edema y hemorragia intensa. Los clostridios también producen DNasa y hialuronidasa, una colagenasa que digiere colágena del tejido subcutáneo y el músculo.

Algunas cepas de *C. perfringens* producen una enterotoxina potente: la enterotoxina de *C. perfringes* (CPE, *C. perfringens enterotoxin*), en especial cuando prolifera en platillos a base de carne. Cuando se ingieren más de 10^8 células vegetativas y éstas esporulan en el intestino, se forma enterotoxina. La CPE (35 kDa) es una proteína que no forma parte esencial del revestimiento de la espora; es distinta a las demás toxinas de clostridios; causa diarrea intensa en 7 a 30 h. La acción de la CPE comprende hipersecreción pronunciada en yeyuno e íleon, con eliminación de líquidos y electrólitos en la diarrea. Otros síntomas menos frecuentes abarcan náusea, vómito y fiebre. Esta enfermedad es similar a la que genera *B. cereus* y tiende a involucionar de forma espontánea. Las cepas de *C. perfringens* productoras de enterotoxinas quizá también paticipan en la diarrea por antibióticos y la enterocolitis necrosante en lactantes.

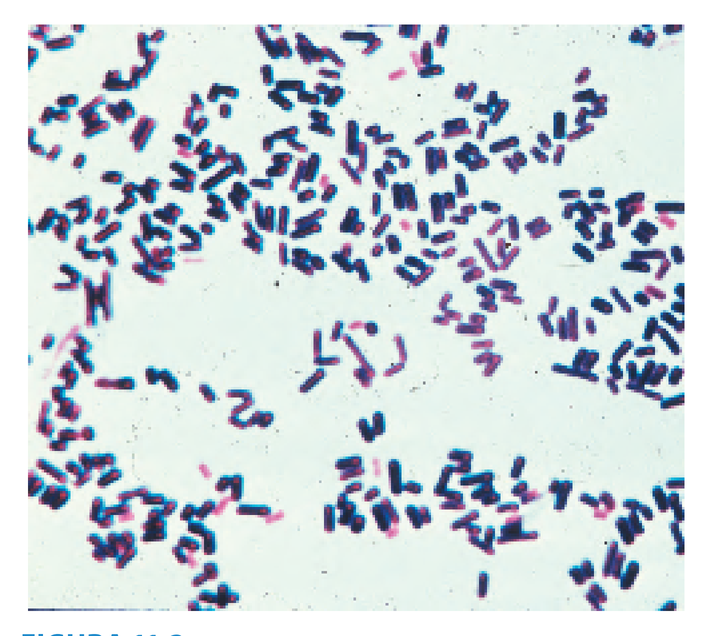


FIGURA 11-3 Bacilo de la gangrena gaseosa. *Clostridium perfringens* no suele formar esporas cuando se cultiva en medios de laboratorio.

Patogenia

En las infecciones invasoras por clostridios, las esporas alcanzan los tejidos por contaminación de las áreas traumatizadas (tierra, heces fecales) o a partir del aparato digestivo. Las esporas germinan a un potencial de oxidorreducción bajo; las células vegetativas se multiplican, fermentan los carbohidratos existentes en los tejidos y producen gas. La distensión de los tejidos y su interferencia con el riego sanguíneo, además de la secreción de toxina necrosante y hialuronidasa, favorecen la diseminación de la infección. La necrosis hística se extiende, proporcionando una oportunidad para incrementar la proliferación bacteriana, la anemia hemolítica y, por último, la toxemia grave y la muerte.

En la gangrena gaseosa (mionecrosis por clostridios), la infección es mixta. Además de clostridios tóxicos, existen clostridios proteolíticos y diversos cocos y microorganismos gramnegativos. *C. perfringens* habita en el aparato genital de 5% de las mujeres. Antes de legalizar el aborto en Estados Unidos, se producían infecciones uterinas por clostridios después de los abortos instrumentales. *Clostridium sordellii* tiene muchas de las propiedades de *C. perfringens.* Se ha informado *C. sordellii* como la causa del síndrome de choque tóxico después del aborto médico con mifepristona y misoprostol intravaginal. Se ha relacionado la infección endometrial con este microorganismo. La bacteriemia por clostridios, en especial la que es producida por *C. septicum*, es frecuente en los pacientes con neoplasias. En Nueva Guinea, *C. perfringens* tipo C origina

una enteritis necrosante (que en los niños tiene una mortalidad alta). Al parecer la vacunación con toxoide tipo C es útil para prevenirla.

Manifestaciones clínicas

Desde una herida contaminada (es decir, fractura compuesta, útero puerperal), la infección se disemina en uno a tres días hasta provocar crepitación en tejido subcutáneo y músculo, una secreción fétida, necrosis rápidamente progresiva, fiebre, hemólisis, toxemia, choque y muerte. El tratamiento se lleva a cabo al efectuar una cirugía lo más pronto posible (amputación) y con antibióticos. Hasta la llegada de un tratamiento específico, el único recurso terapéutico era la amputación inmediata. Algunas veces la infección provoca sólo una fascitis anaerobia o celulitis.

La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* casi siempre se produce al ingerir gran cantidad de clostridios que han proliferado en comida caliente a base de carne. La toxina se forma cuando los microorganismos esporulan en el intestino y la diarrea comienza, casi siempre sin vómito ni fiebre, en un lapso de 7 a 30 h. La duración de esta enfermedad es de uno a dos días.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras comprenden material de las heridas, pus y tejido. La presencia de bacilos grampositivos grandes en los frotis tratados con tinción de Gram sugiere clostridios de gangrena gaseosa; no suele haber esporas.

El material se inocula en un medio con carne picada y glucosa y un medio de tioglicolato, así como en placas de agar sangre y se incuba de forma anaerobia. Una vez que se obtienen cultivos puros al seleccionar las colonias de placas de agar sangre incubadas de manera anaerobia, se identifican por medio de reacciones bioquímicas (diversos carbohidratos en el tioglicolato, acción sobre la leche), hemólisis y características morfológicas de las colonias. Se valora la actividad de la lecitinasa por el precipitado que se forma alrededor de las colonias en un medio con yema de huevo. La espectrometría de masas de tiempo de vuelo por desorción-ionización de láser asistida con matriz (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-fligt mass spectrometry*) es un método rápido y sensible para identificar especies invasoras de *Clostridium* obtenidas por cultivo. *C. perfringens* rara vez produce esporas cuando se cultiva en agar en el laboratorio.

Tratamiento

El aspecto más importante del tratamiento es la desbridación quirúrgica inmediata y extensa del área afectada y la extirpación de todo el tejido desvitalizado, donde los microorganismos tienden a proliferar. Al mismo tiempo se empiezan a administrar antimicrobianos, en especial penicilina. El oxígeno hiperbárico tiene cierta utilidad en el tratamiento médico de las infecciones hísticas por clostridios. Se dice que "desintoxica" a los pacientes con rapidez.

Se cuenta con antitoxinas contra las toxinas de *C. perfringens, Clostridium novyi, Clostridium histolyticum* y *Clostridium septicum*, por lo general en forma de inmunoglobulinas concentradas. También se ha utilizado la antitoxina polivalente que contiene anticuerpos contra varias toxinas. Si bien en ocasiones esta antitoxina se administra en personas con heridas contaminadas que contienen abundante tejido desvitalizado, no se ha demostrado que sea eficaz. La intoxicación alimentaria por la enterotoxina de *C. perfringens* casi siempre requiere sólo de cuidados paliativos.

Prevención y control

Las mejores medidas preventivas existentes son limpieza inmediata y adecuada de las heridas contaminadas y desbridación quirúrgica, combinadas con la administración de antibióticos contra clostridios (p. ej., penicilina). No se debe confiar en las antitoxinas. A pesar de que se han preparado toxoides para la vacunación activa, no se han utilizado en la práctica.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE Y ENFERMEDADES DIARREICAS

Colitis seudomembranosa

Esta entidad patológica se diagnostica al detectar una o ambas toxinas de *C. difficile* en las heces fecales y al observar, por medio de endoscopia, seudomembranas o microabscesos en los pacientes con diarrea que han recibido antibióticos. Las placas y los microabscesos a menudo se circunscriben a un área del intestino. La diarrea puede ser líquida o hemorrágica y con frecuencia el paciente manifiesta cólicos abdominales, leucocitosis y fiebre. Numerosos antibióticos se han vinculado con la colitis seudomembranosa, pero los más frecuentes son ampicilina y clindamicina y, de modo más reciente, las fluoroquinolonas. La enfermedad se trata al interrumpir la utilización del antibiótico lesivo y con la administración de metronidazol, vancomicina o fidaxomicina por vía oral. El trasplante fecal se ha convertido en un método exitoso y sistemático para tratar la enfermedad recurrente y resistente. De manera habitual, esto conlleva el uso de las heces donadas por un pariente sano mediante colonoscopia o, de forma menos común, con una sonda nasogástrica en el tubo digestivo del paciente.

La administración de antibióticos provoca la proliferación de *C. difficile* farmacorresistente que produce dos toxinas. La toxina A, una enterotoxina potente que también tiene alguna actividad citotóxica, se une a las membranas con borde en cepillo del intestino en los sitios receptores. La toxina B es una citotoxina poderosa. Las toxinas de *C. difficile* tienen actividad de glucosiltransferasa y actúan al modificar moléculas de señalización que controlan varias funciones celulares. Esto resulta en apoptosis, exudado capilar, estimulación con citocina y otras consecuencias que desembocan en colitis. Ambas toxinas se encuentran casi siempre en las heces de pacientes con colitis seudomembranosa. Sin embargo, se han descrito las infecciones por toxinas negativas a A y positivas a B. No todas las cepas de *C. difficile* producen las toxinas y los genes de la toxina se encuentran en un islote de patogenicidad cromosómico grande junto con otros tres genes que regulan la expresión de toxina.

El diagnóstico es clínico y se sustenta al comprobar la presencia de la toxina en las heces por medio de diversos métodos que incluyen cultivo toxígeno anaerobio, inmunoenzimoanálisis

y pruebas moleculares que detectan los genes que codifican las toxinas A o B. Para obtener descripciones más completas sobre el diagnóstico de *C. difficile,* se recomienda ir a la referencia de Burnham.

La oleada de infecciones por *C. difficile* desde el comienzo del siglo XXI se cree tiene relación con una combinación de factores del hospedador y del microorganismo. Los factores causales del hospedador incluyen envejecimiento de la población, aumento de la supervivencia de individuos susceptibles inmunodeprimidos e incremento de la administración de antibióticos y fármacos supresores de ácido gástrico. Los factores del microorganismo se relacionan sobre todo con el surgimiento de ciertos tipos de cepas que son más virulentos debido a mutaciones en el locus de la patogenicidad.

Diarrea por antibióticos

Con frecuencia la administración de antibióticos provoca una diarrea leve a moderada que se denomina **diarrea por antibióticos**. Por lo general, esta enfermedad es más leve que la forma clásica de colitis seudomembranosa. *C. difficile* produce hasta 25% de los casos de diarrea por antibióticos. Otros clostridios, como *C. perfringens* y *C. sordelli* también se han considerado como causas. Estos últimos no originan colitis seudomembranosa.

Verificación de conceptos

- Los *clostridios* son bacilos grampositivos anaerobios, grandes y formadores de esporas que se encuentran en el ambiente y el aparato digestivo de muchos animales y seres humanos.
- Los clostridios se clasifican según su capacidad para fermentar carbohidratos y digerir proteínas.
- Las toxinas producidas por los clostridios patógenos son la causa de diversas enfermedades graves, como botulismo, tétanos y gangrena gaseosa.
- *C. botulinum* produce toxina botulínica, una de las neurotoxinas más potentes del planeta, que origina el botulismo, enfermedad caracterizada por parálisis flácida.
- *C. tetani* también produce una neurotoxina, la tetanoespasmina, que bloquea la liberación de los neurotransmisores inhibidores cuyo resultado es el tétanos, entidad patológica caracterizada por parálisis espástica.
- Otros clostridios generan infecciones invasoras de las heridas (gangrena), septicemia, diarrea por antibióticos e intoxicación alimentaria según sean las circunstancias epidemiológicas y los tipos de enzimas o las toxinas elaboradas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer que vive en una granja pequeña es llevada a urgencias por diplopía y dificultad para hablar. En las dos últimas horas, advirtió xerostomía y debilidad generalizada. La noche previa sirvió, como parte de la comida, ejotes envasados en casa. Probó los ejotes antes de hervirlos. Ningún otro miembro de la familia enfermó. En la exploración física, se observa parálisis descendente simétrica de los pares craneales, extremidades superiores y tronco. ¿Cuál de los siguientes es el diagnóstico correcto?
   (A) Tétanos
   (B) Intoxicación por estricnina
   (C) Botulismo
   (D) Sobredosis de morfina
   (E) Intoxicación por ricino
2. ¿Cuál de los siguientes constituye un factor de virulencia importante de *Bacillus anthracis*?
   (A) Antígeno protector
   (B) Lipopolisacárido
   (C) Pilosidades
   (D) Toxina que inhibe al factor EF-2 de alargamiento de la cadena peptídica
   (E) Lecitinasa
3. Un varón joven sufre una lesión importante de tejidos blandos y una fractura abierta de la pierna derecha después de un accidente en una motocicleta. Un día después su temperatura es de 38 °C, la frecuencia cardiaca está aumentada, y hay diaforesis e inquietud. En la exploración física, la pierna se observa edematosa y tensa, y de las heridas drena un material líquido seroso y oscuro. La piel de la extremidad inferior fría, pálida, blanca y brillante. Se percibe crepitación. Su hematocrito es de 20% (~ 50% del normal) y la hemoglobina circulante es normal. En el suero hay hemoglobina libre. ¿Cuál de los microorganismos siguientes constituye la causa más probable de esta infección?
   (A) *Clostridiun tetani*
   (B) *Staphylococcus aureus*
   (C) *Escherichia coli*
   (D) *Bacillus anthracis*
   (E) *Clostridium perfringens*
4. Para el paciente descrito en la pregunta 3, ¿cuál de las siguientes opciones probablemente causa la hemólisis?
   (A) Factor de elongación
   (B) Tetanoespasmina
   (C) Lecitinasa
   (D) Estreptolisina O
   (E) Toxina B
5. El periodo de incubación notificado del carbunco pulmonar (por inhalación) es de:
   (A) 2 días
   (B) 10 días
   (C) 3 semanas
   (D) 6 semanas
   (E) 6 meses
6. Un alimento que con frecuencia causa intoxicación alimentaria por *Bacillus cereus* es:
   (A) Arroz frito
   (B) Papa al horno
   (C) Arroz cocinado recientemente al vapor
   (D) Ejotes
   (E) Miel
7. La toxina tetánica (tetanoespasmina) se difunde hacia las terminales de las células inhibidoras en la médula espinal y tallo encefálico y bloquea a cuál de las siguientes:
   (A) Liberación de acetilcolina
   (B) Fragmentación de proteínas SNARE
   (C) Liberación de glicina inhibidora y ácido aminobutírico γ
   (D) Liberación de antígeno protector
   (E) Activación de acetilcolina esterasa
8. Un varón de 45 años de edad que emigró a Estados Unidos hace cinco años sufrió una lesión por punción en el tercio inferior de la pierna derecha cuando su podadora lanzó una astilla. Seis días después, advirtió espasmos en los músculos de la pierna derecha;

al séptimo día, los espasmos aumentaron. El día de hoy (octavo día) manifiesta espasmos musculares generalizados, sobre todo en los músculos de la mandíbula, la cual, no pudo abrirla y acudió al servicio de urgencias. Ahí, el sujeto se encuentra alerta y yace tranquilo en la cama. Una puerta en el pasillo se azota y el paciente manifiesta de forma repentina un espasmo muscular generalizado y su espalda se arquea. ¿Cuál de los siguientes es el diagnóstico correcto?

(A) Botulismo
(B) Carbunco
(C) Gangrena gaseosa
(D) Tétanos
(E) Síndrome de choque tóxico

9. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre el tétanos y el toxoide tetánico es correcta?

(A) La toxina tetánica mata neuronas
(B) La vacunación con toxoide tetánico tiene una tasa de fracaso de 10%
(C) La mortalidad del tétanos generalizado es menor de 1%
(D) Con frecuencia el primer signo de tétanos es diplopía
(E) La toxina tetánica actúa sobre las sinapsis interneuronales inhibidoras

10. Un varón de 67 años de edad tuvo una cirugía por rotura de un divertículo del colon sigmoides con un absceso. Se realizó una reparación y el absceso se drenó. Se le administró tratamiento con gentamicina y ampicilina intravenosas. Cuatro y diez días después de su egreso hospitalario, el paciente presentó malestar general, fiebre y cólicos abdominales. Tuvo varios episodios de diarrea. Las evacuaciones mostraron una prueba positiva de sangre oculta y presencia de polimorfonucleares. La sigmoidoscopia reveló mucosa eritematosa e inflamada y placas amarillentas de 4 a 8 mm de diámetro. ¿Cuál de las siguientes opciones constituye el problema más probable de este paciente?

(A) Enterotoxina de *Staphylococcus aureus*
(B) Toxina de *Bacillus cereus*
(C) Toxinas de *Clostridium difficile*
(D) Toxina de *Clostridium perfringens*
(E) *Escherichia coli* enterohemorrágica

11. El botulismo infantil se ha vinculado con los siguientes clostridios, excepto:

(A) *Clostridium baratii*
(B) *Clostridium septicum*
(C) *Clostridium butyricum*
(D) *Clostridium botulinum*

12. ¿Cuál de los siguientes alimentos se relaciona con más frecuencia con el botulismo infantil?

(A) Jarabe de maíz
(B) Leche en polvo enlatada
(C) Multivitaminas líquidas
(D) Miel
(E) Alimento infantil envasado en frascos

13. Las siguientes son características de *Bacillus anthracis,* EXCEPTO:

(A) Movilidad en la preparación en fresco
(B) Colonias con forma de "cabeza de Medusa"
(C) Cápsula de ácido poli-D-glutámico
(D) Sensibilidad *in vitro* a la penicilina
(E) Ausencia de hemólisis en agar sangre de carnero al 5%

14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre la vacuna contra *Bacillus anthracis* es correcta?

(A) Se encuentra disponible de forma constante para cualquier ciudadano de Estados Unidos
(B) Los estudios clínicos sobre vacuna recombinante han demostrado que es segura y eficaz
(C) La vacuna actual se tolera bien
(D) Una sola dosis basta después del contacto con esporas
(E) La vacuna en animales carece de utilidad

15. Las aseveraciones siguientes sobre *Clostridium perfringens* son correctas, EXCEPTO:

(A) Produce una enterotoxina
(B) Genera una zona doble de hemólisis β cuando se cultiva en agar sangre
(C) Algunas cepas son aerotolerantes
(D) Constituye la causa más frecuente de diarrea por antibióticos
(E) En ocasiones, causa hemólisis intravascular

Respuestas

1. C	5. D	9. E	13. A
2. A	6. A	10. C	14. B
3. E	7. C	11. B	15. D
4. C	8. D	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Abbara A, Brooks T, Taylor GP, *et al.*: Lessons for control of heroin-associated anthrax in Europe from 2009-2010 outbreak case studies, London, UK. *Emerg Infect Dis* 2014;20:1115-1122.

Aronoff DM: *Clostridium novyi, sordellii, and tetani*: mechanisms of disease. *Anaerobe* 2013;24:98-101.

Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:382-398.

Burnham CA, Carroll KC: Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clin Microbiol Rev* 2013;26:604-630.

Campbell JR, Hulten K, Baker CJ: Cluster of *Bacillus* species bacteremia cases in neonates during a hospital construction project. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:1035-1038.

Hendricks KA, Wright ME, Shadomy SV, *et al.*: Centers for disease control and prevention expert panel meetings on prevention and treatment of anthrax in adults. *Emerg Infect Dis* 2014;20:e130687.

Kalka-Moll WM, Aurbach U, Schaumann R, *et al.*: Wound botulism in injection drug users. *Emerg Infect Dis* 2007;13:942-943.

Kummerfeldt CE. Raxibacumab: potential role in the treatment of inhalational anthrax. *Infect Drug Resist* 2014;7:101-109.

Liu S, Moayeri M, Leppla SH: Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends Microbiol* 2014;22:317-325.

Reddy P, Bleck TP: *Clostridium tetani* (Tetanus). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Churchill Livingstone, 2010.

Rossetto O, Pirazzini M, Montecucco C: Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nature Rev Microbiol* 2014;12:535-540.

Stevens DL, Bryant AE, Carroll K: *Clostridium*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015 (in Press).

World Health Organization: *World Anthrax Data Site*. Available at http://www.vetmed.lsu.edu/whocc/mp_world.htm.

CAPÍTULO

12

Bacilos grampositivos aerobios no esporulantes: *Corynebacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Nocardia* y patógenos relacionados

Los bacilos grampositivos no esporulantes constituyen un grupo diverso de bacterias aerobias y anaerobias. En este capítulo se revisan los miembros aerobios de este grupo. Los bacilos grampositivos anaerobios que no forman esporas como especies de *Propionibacterium* y de *Actinomyces* se describen en el capítulo 21 dentro de las infecciones anaerobias. Géneros específicos de los dos grupos, es decir, especies del género *Corynebacterium* y especies del género *Propionibacterium,* son miembros de la microbiota normal de la piel y las mucosas del ser humano y, como tales, a menudo son contaminantes de muestras clínicas que se remiten para valoración diagnóstica. Sin embargo, entre los bacilos grampositivos aerobios se encuentran microorganismos patógenos importantes como *Corynebacterium diphtheriae,* un microorganismo que produce una potente exotoxina que causa la difteria en el ser humano, y *Mycobacterium tuberculosis* (capítulo 23), el microorganismo causante de la tuberculosis. *Listeria monocytogenes* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* se localizan principalmente en animales y a veces producen enfermedades graves en el ser humano. Las de especies de *Nocardia* y *Rhodococcus* se localizan en el suelo y son patógenos importantes en pacientes inmunodeprimidos.

Las especies del género *Corynebacterium* y bacterias relacionadas por lo común tienen una forma irregular o en palillo de tambor; aunque no todas las cepas tienen las formas irregulares, los términos bacterias *corineformes* o *difteroides* son convenientes para designar este grupo amplio. Estas bacterias tienen un alto contenido de guanosina más citosina y comprenden los géneros *Corynebacterium, Arcanobacterium, Mycobacterium* y otros más (cuadro 12-1). Los géneros *Actinomyces* y *Propionibacterium* se clasifican como anaerobios, pero algunas cepas se desarrollan bien en medios aerobios (aerotolerantes) y se deben diferenciar de las bacterias corineformes aerobias. Otros bacilos grampositivos no esporulantes tienen formas más regulares y un contenido más bajo de guanosina más citosina. Los géneros comprenden *Listeria* y *Erysipelothrix;* estas bacterias están relacionadas en forma más estrecha con las especies anaerobias del género *Lactobacillus,* que a veces se desarrollan bien en aire, y con las especies formadoras de esporas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* (y con los cocos grampositivos de las especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*) que con las bacterias corineformes. En el cuadro 12-1 se enumeran los géneros de bacilos grampositivos aerobios de importancia médica. En el capítulo 21 se describen las bacterias anaerobias.

No hay método unificado para identificar los bacilos grampositivos. Algunos laboratorios tienen equipos para cuantificar el contenido de guanosina más citosina. El crecimiento sólo en condiciones anaerobias implica que la cepa es un anaerobio, pero muchas cepas de los géneros *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Propionibacterium*, entre otras son aerotolerantes. La mayor parte de las cepas del género *Mycobacterium*, *Nocardia* y *Rhodococcus*, son acidorresistentes y, por lo tanto, se diferencian con facilidad de las bacterias corineformes. Muchos géneros de *Bacillus* y *Clostridium* producen esporas y la presencia de éstas distingue con facilidad a la cepa aislada de las bacterias corineformes, cuando existen. Para determinar que una cepa es un *Lactobacillus* (o *Propionibacterium*) puede ser necesaria la cromatografía de gas líquido para medir los productos metabólicos del ácido láctico (o ácido propiónico), pero esto en general no es práctico. Otras pruebas que se utilizan para tratar de identificar una cepa de bacilos grampositivos no esporulantes como miembro de un género o especie son la producción de catalasa, la producción de indol, la reducción de nitrato y la fermentación de carbohidratos, entre otras. En muchos laboratorios clínicos se han desarrollado técnicas de secuenciación dirigidas al gen de rRNA 16S u otros blancos génicos para la identificación de muchos de estos microorganismos, pero sobre todo de especies de los géneros *Mycobacterium* y *Nocardia* aisladas de especímenes clínicos. Una tecnología relativamente nueva introducida recientemente en los laboratorios de microbiología comprende la aplicación de la espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS, matrix-*assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectroscopy*) que permite valorar a las proteínas ribosomales cuyos patrones espectrales son lo suficientemente singulares como para identificar a los microorganismos a nivel de especie. Esta tecnología funciona bien para identificar una amplia gama de bacterias como corinebacterias y anaerobios, aunque hay menos datos para bacterias más complejas, por ejemplo especies de *Mycobacterium*. Esta tecnología se describe con mayor detalle en el capítulo 47.

apter 12_Carroll_4R.indd 191 14/04/16

CUADRO 12-1 Bacilos grampositivos aerobios comunes y sus asociaciones con enfermedades

Microorganismo	Características generales	Asociaciones con enfermedades
Corynebacterium		
Corynebacterium diphtheriae	Bacilos claviformes que forman gránulos metacromáticos; colonias negras en medios de cultivo de telurita	Cepas toxígenas: difteria Cepas no toxígenas: bacteriemia, endocarditis
Corynebacterium ulcerans	Colonias blancas grisáceas; ureasapositivas	Las cepas toxígenas pueden causar difteria
Corynebacterium pseudotuberculosis	Colonias blancas amarillentas; ureasapositivas	Las cepas toxígenas pueden causar difteria
Corynebacterium striatum		Infecciones hospitalarias, especialmente de vías respiratorias inferiores
Corynebacterium urealyticum	Produce urea; resistente a muchos fármacos	Cistitis y pielitis incrustadas
Corynebacterium jeikeium	Colonias blancas grisáceas; resistentes a muchos fármacos	Bacteriemia y otras infecciones en hospedadores inmunodeprimidos
Arcanobacterium hemolyticum	Cocobacilos catalasa negativos; hemolíticos β	Faringitis; infecciones de heridas; septicemia
Rothia		
Rothia dentocariosa	Ramificaciones filamentosas	Abscesos; endocarditis
Rothia mucilaginosa	Morfología cocoide; colonias blanquecinas	Bacteriemia, endocarditis en usuarios de drogas intravenosas y pacientes inmunodeprimidos
Listeria monocytogenes	Bacilos grampositivos cortos y finos; motilidad catalasa positiva, no forma espora; muestra hemólisis β	Gastroenteritis por alimentos en hospedadores inmunosuprimidos; septicemia y meningitis neonatales; infecciones posparto; pacientes con meningoencefalitis, bacteriemia y septicemia en pacientes inmunodeprimidos
Erysipelathrix rhusiopathiae	Aparece únicamente como cadenas cortas o ramificaciones filamentosas; hemolítico α en agar de sangre; produce H_2S	Erisipeloide; bacteriemia; endocarditis
Nocardia		
Nocardia brasiliensis	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera; colonias rugosas amarillentas	Lesiones cutáneas relacionadas con traumatismo, incluyen micetoma
Nocardia abscessus	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera	Abscesos pulmonares y cerebrales
Nocardia nova complex	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera	Varias especies de este complejo asociadas con una gama amplia de síndromes clínicos
Nocardia transvalensis complex	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera	Abscesos pulmonares y cerebrales
Nocardia farcinica	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera; colonias lisas que se vuelven color naranja	Entre las especies más resistenes de *Nocardia*, este patógeno causa enfermedad diseminada, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos
Nocardia asteroides	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera; colonias blancas gredosas	Causa no frecuente de infecciones
Nocardia cyriacigeorgica	Bacilos positivos acidorresistentes modificados, finos, ramificados y con forma de microesfera; colonias empolvadas con hifas elevadas	La especie de *Nocardia* más común en material clínico; infecciones respiratorias, heridas, absceso cerebral
Rhodococcus equi	Microorganismos cocoides que son positivos acidorresistentes modificados; colonias lisas color rosa salmón	Neumonía, a menudo con formación de cavidad en pacientes inmunodeprimidos
Actinomadura		
Actinomadura madurae	Filamentos finos, cortos ramificados; tienen apariencia de granos en tejido; las colonias son rugosas y pueden tener color	Micetoma (micetoma del pie)
Actinomadura pelletieri	Filamentos ramificados cortos; tienen apariencia de granos en tejido; las colonias son rugosas y pueden tener color	Micetoma
Streptomyces somaliensis	**Negativos** acidorresistentes; las colonias tienen apariencia rugosa con hifas elevadas	Micetoma

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

Morfología e identificación

Las corinebacterias tienen un diámetro de 0.5 a 1 µm y varios micrómetros de longitud. Es característico que posean tumefacciones irregulares en un extremo que les da el aspecto de "forma en palillo de tambor" (figura 12-1). Con una distribución irregular dentro del bacilo (a menudo cerca de los polos) se encuentran los gránulos que se tiñen profundamente con colorantes de anilina (gránulos metacromáticos) que le confieren al bacilo un aspecto de microesfera. Las corinebacterias individuales en frotis teñidos tienden a acomodarse en forma paralela o en ángulos agudos entre sí. Pocas veces se observan verdaderas ramificaciones en los cultivos.

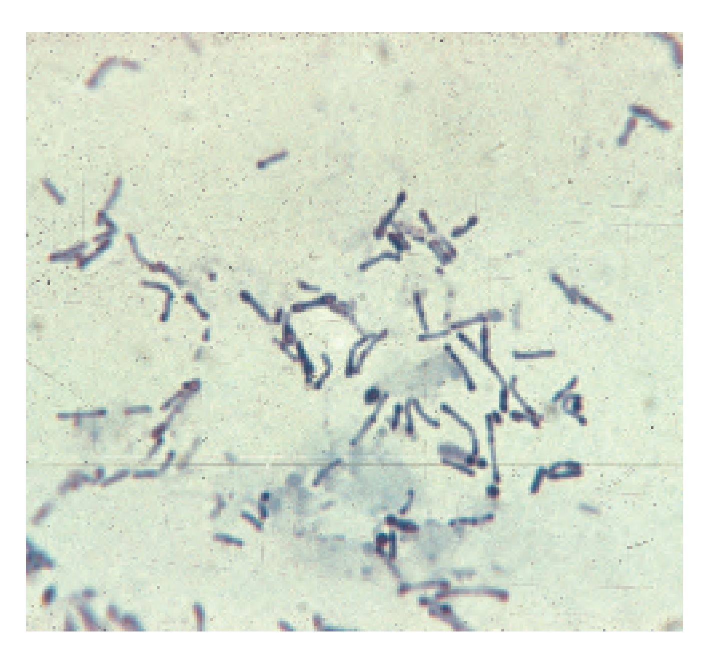


FIGURA 12-1 *Corynebacterium diphtheriae* de un medio de Pai teñido con azul de metileno. Es característico que tengan un diámetro de 0.5 a 1 × 3 a 4 μm. Algunas de las bacterias tienen extremos en palillo de tambor (amplificación original × 1 000).

En agar sangre, las colonias de *C. diphtheriae* son pequeñas, granulosas y grises, con bordes irregulares y pueden tener pequeñas zonas de hemólisis. En telurita de potasio que contiene agar, las colonias son de color pardo a negro con un halo negro pardusco debido a que la telurita se reduce dentro de la célula (estafilococos y estreptococos también producen colonias de color negro). Se han reconocido ampliamente cuatro biotipos de *C. diphtheriae*; cada uno produce una exotoxina potente: gravis, mitis, intermedius y belfanti. Estas variantes se clasificaron con base en las características de crecimiento tales como morfología de la colonia, reacciones bioquímicas y gravedad de la enfermedad producida por la infección. Existen muy pocos laboratorios de referencia equipados con los métodos necesarios para ofrecer una clasificación confiable del biotipo. La frecuencia de la difteria ha disminuido de manera considerable y ya no es importante la relación entre la gravedad de la enfermedad y la biovariedad para el tratamiento médico ni para el control de los casos o brotes por parte de salud pública. Si es necesario en el contexto de un brote epidémico, se pueden utilizar métodos inmunoquímicos y moleculares para tipificar *C. diphtheriae.*

C. diphtheriae y otras corinebacterias proliferan en medio aerobio en casi todos los medios de laboratorio ordinarios. En el suero de Loeffler, las corinebacterias proliferan con mayor rapidez que otros microorganismos respiratorios y las características morfológicas de los microorganismos son típicas en los frotis obtenidos de estas colonias.

Las corinebacterias tienden al pleomorfismo en la morfología microscópica y de colonias. Cuando algunos microorganismos de la difteria no toxígenos son infectados con bacteriófago de determinados bacilos de la difteria coccígenos, la progenie de las bacterias expuestas son lisógenas y toxígenas; este rasgo después se hereda. Cuando los bacilos de difteria toxígenos son subcultivados en serie en antisuero específico contra el bacteriófago moderado que portan, tienden a volverse no toxígenos. Por consiguiente, la adquisición del bacteriófago conduce a la toxigenicidad (conversión lisógena). La producción eficaz de la toxina ocurre tal vez sólo cuando el probacteriófago de *C. diphtheriae* lisógeno se activa y produce lisis. Si bien la toxigenicidad está controlada por el gen del bacteriófago, la invasividad está sujeta al control de genes bacterianos.

Patogenia

El principal microorganismo patógeno en el ser humano del género *Corynebacterium* es *C. diphtheriae,* el microorganismo que produce la difteria respiratoria o cutánea. En la naturaleza, *C. diphtheriae* se observa en el sistema respiratorio, en heridas o en la piel de personas infectadas o portadores sanos. Se disemina por las gotitas de secreciones respiratorias o por el contacto con individuos susceptibles; los bacilos luego se desarrollan en las mucosas o en abrasiones en la piel y los que son toxígenos comienzan a producir toxina.

Todos los microorganismos de la especie *C. diphtheriae* toxígena son capaces de elaborar la misma exotoxina productora de la enfermedad. La producción *in vitro* de esta toxina depende en gran parte de la concentración de hierro. La producción de toxina es óptima a 0.14 μg de hierro por mililitro de medio pero prácticamente se suprime a una concentración de 0.5 μg/ml. Otros factores que influyen en la producción de toxina *in vitro* son presión osmótica, concentración de aminoácidos, pH y disponibilidad de fuentes adecuadas de carbono y nitrógeno. Los factores que controlan la producción de toxina *in vitro* aún no se comprenden bien.

La **toxina de la difteria** es un polipéptido termolábil, monocatenario, de tres dominios polipeptídicos (62 kDa) que puede ser letal a una dosis de 0.1 μg/kg de peso corporal. Si se rompen los puentes de disulfuro, la molécula puede dividirse en dos fragmentos. El fragmento B (38 kDa), que no tiene actividad independiente, se divide funcionalmente en un dominio de receptor y un dominio de translocación. La unión del dominio de receptor a las proteínas de membrana de la célula hospedadora CD-9 y al precursor parecido al factor de crecimiento epidérmico fijador de heparina (HB-EGF, *heparin-binding epidermal growth factor*), desencadena la entrada de la toxina en la célula a través de la endocitosis mediada por el receptor. La acidificación del dominio de translocación dentro de un endosoma en desarrollo conduce a la creación de un canal de proteína que facilita el desplazamiento del fragmento A hacia el citoplasma de la célula hospedadora. El fragmento A inhibe la elongación de la cadena polipéptidica, siempre y cuando esté presente un dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD, *nicotinamide–adenine dinucleotide*), al inactivar el factor de elongación EF-2. Este factor es necesario para la translocación del RNA de transporte de polipeptidil desde el sitio aceptador al donante en el ribosoma eucariótico. El fragmento A de la toxina inactiva EF-2 al catalizar una reacción que produce nicotinamida libre más complejo de adenosina difosfato-ribosa-EF-2 inactivo (ADP-ribosilación). Se cree que el cese brusco de la síntesis de proteína es la causa de los efectos necrosantes y neurotóxicos de la toxina de la difteria. Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pueden producir una exotoxina mediante un mecanismo de acción similar.

Anatomía patológica

La toxina de la difteria se absorbe hacia las mucosas y produce destrucción del epitelio y una respuesta inflamatoria superficial. El epitelio necrótico queda embebido en la fibrina exudativa y los eritrocitos y leucocitos, de manera que se forma una "seudomembrana" grisácea, por lo general sobre amígdalas, faringe o laringe. Cualquier tentativa de eliminar la seudomembrana expone y desgarra los capilares y por lo tanto produce hemorragia. Los ganglios linfáticos del cuello aumentan de tamaño y algunas veces se produce edema acentuado en todo el cuello con distorsión de las vías respiratorias, a menudo llamado "cuello proconsular". Los bacilos de la difteria en la membrana continúan produciendo toxina en forma activa. Ésta se absorbe y el resultado es una lesión tóxica a distancia, principalmente degeneración parenquimatosa, infiltración grasa y necrosis en el músculo cardiaco (miocarditis), hígado, riñones (necrosis tubular) y glándulas suprarrenales, acompañada en ocasiones de hemorragia macroscópica. La toxina además provoca lesión de los nervios (desmielinización), cuyo resultado es a menudo parálisis del paladar blando, músculos oculares o extremidades.

La difteria cutánea o de heridas es más frecuente en los trópicos, aunque también se han descrito algunos casos en climas templados entre alcohólicos, indigentes y otros grupos empobrecidos. Se forma una membrana sobre una herida infectada que no logra cicatrizar. Sin embargo, la absorción de toxina suele ser leve y los efectos sistémicos insignificantes. La pequeña cantidad de toxina que se absorbe durante la infección cutánea favorece el desarrollo de anticuerpos antitoxina. La "virulencia" de los bacilos diftéricos se debe a su capacidad para establecer la infección, su proliferación rápida y luego su pronta elaboración de toxina que se absorbe de manera eficaz. *C. diphtheriae* no tiene que ser toxígeno para establecer una infección localizada (p. ej., en la nasofaringe o la piel) pero las cepas antitoxígenas no producen efectos tóxicos localizados o sistémicos. *C. diphtheriae* no invade activamente tejidos profundos y prácticamente nunca entra en la circulación sanguínea. Sin embargo, es notable que en el transcurso de los últimos dos decenios han aumentado los informes sobre infecciones invasivas como la endocarditis y septicemia debida a *C. diphtheriae* no toxígena.

Manifestaciones clínicas

Cuando la inflamación diftérica empieza en el aparato respiratorio, casi siempre se acompaña de dolor de garganta y febrícula. La postración y la disnea se presentan poco después por la obstrucción causada por la membrana. Esta obstrucción puede incluso ocasionar asfixia si no se trata con rapidez mediante intubación o traqueostomía. Las irregularidades del ritmo cardiaco indican lesión del corazón. Más tarde, puede haber dificultades visuales, de lenguaje, de la deglución o del movimiento de los brazos o las piernas. Todas estas manifestaciones tienden a desaparecer en forma espontánea.

En general, la variedad gravis tiende a producir una enfermedad más grave que la variedad mitis, pero todos los tipos pueden producir enfermedad similar.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Son útiles para confirmar la impresión clínica y tienen importancia epidemiológica. ***Nota:*** El tratamiento específico nunca debe demorarse por los resultados de laboratorio si el cuadro clínico es muy sugestivo de difteria. Los médicos deben notificar al laboratorio clínico antes de obtener o remitir muestras para cultivo.

Antes de la administración de fármacos antimicrobianos deben obtenerse frotis de dacrón de la nariz, la faringe o de otras lesiones sospechosas. El frotis debe obtenerse por debajo de cualquier membrana visible. El frotis luego debe colocarse en medios de transporte semisólidos como Amies. Los frotis teñidos con azul de metileno alcalino o con tinción de Gram muestran bacilos con forma de microesferas con una disposición característica.

Las muestras deben ser inoculadas en una placa de agar con sangre (para descartar la posibilidad de estreptococo hemolítico), y un medio selectivo como placa de telurita (p. ej., agar con sangre y cistina-telurita [CTBA, *cystine-tellurite blood agar*] o un medio modificado de Tinsdale) e incubado a 37 °C en CO_2 al 5%. Las placas se examinan de 18 a 24 h. En 36 a 48 h, las colonias en medio de telurita son lo suficientemente definidas para el reconocimiento de *C. diphtheriae.* En el agar de cistina con telurita, las colonias son negras con un halo café.

Una cepa presuntiva de *C. diphtheriae* debe someterse a pruebas de toxigenicidad. Tales pruebas se realizan sólo en laboratorios de salud pública de referencia. Existen varios métodos, a saber:

1. El método de Elek modificado descrito por la Unidad de Referencia de Difteria de la OMS.

   Un disco de papel de filtro que contiene antitoxina (10 UI/disco) se coloca en una placa de agar. Los cultivos en los que se debe comprobar la toxigenicidad se inoculan (cuando menos se eligen 10 colonias) de 7 a 9 mm del disco. Después de 48 h de incubación, la antitoxina que se difunde desde el disco de papel ha precipitado la toxina que se difunde desde los cultivos toxígenos y ha producido bandas de precipitina entre el disco y el crecimiento bacteriano.
2. Se han descrito los métodos con base en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para la detección del gen de la toxina diftérica (*tox*). Los análisis de PCR para *tox* también se pueden utilizar directamente en los especímenes de los pacientes antes que se disponga de los resultados de cultivo. Un cultivo positivo confirma un análisis de PCR positivo. Un cultivo negativo después de la antibioticoterapia junto con un análisis de PCR positivo indica que el paciente probablemente tiene difteria.
3. Se pueden emplear enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme–linked immunosorbent assay*) para detectar toxina diftérica de cepas de *C. diphtheriae* clínicas.
4. Un análisis de tira inmunocromográfica permite detectar toxinas de la difteria en cuestión de horas. Este análisis es muy sensible.

   Los últimos dos estudios no se llevan a cabo en todos los lugares.

Resistencia e inmunidad

Puesto que la difteria es principalmente resultado de la acción de la toxina formada por el microorganismo más que de la invasión por el mismo, la resistencia a la enfermedad depende en gran parte de la disponibilidad de la antitoxina neutralizante específica en el torrente sanguíneo y en los tejidos. En general es verdad que la difteria ocurre sólo en las personas que no poseen anticuerpos de antitoxina (IgG) (o menos de 0.01 UI/ml). La mejor manera de valorar la inmunidad a la toxina de la difteria en pacientes individuales es mediante el análisis de las inmunizaciones con toxoide diftérico documentadas y si es necesaria la inmunización primaria o de refuerzo.

Tratamiento

El tratamiento de la difteria se basa en gran parte en la supresión rápida de las bacterias productoras de toxina por los fármacos antimicrobianos y la administración inicial de la antitoxina específica contra la toxina formada por los microorganismos en su lugar de entrada y multiplicación. La antitoxina de la difteria se produce en diversos animales (caballos, corderos, cabras y conejos) mediante la inyección repetida de toxoide purificado y concentrado. El tratamiento con antitoxina es indispensable cuando hay sospecha clínica importante de difteria. Se inyectan entre 20 000 y 120 000 unidades por vía intramuscular o intravenosa, dependiendo de la duración de los síntomas y la gravedad de la enfermedad, después de haber tomado las precauciones correspondientes (prueba cutánea) para descartar hipersensibilidad al suero animal. La antitoxina se administra por vía intravenosa el día que se confirma el diagnóstico clínico de difteria y no es necesario repetirla. En los casos leves es posible utilizar la inyección intramuscular. La antitoxina de difteria neutralizará sólo toxina circulante que no se une a tejido.

Los antimicrobianos (penicilina, macrólidos) inhiben el crecimiento de bacilos de difteria. Aunque tales fármacos carecen prácticamente de efectos sobre el proceso de la enfermedad, pueden detener la producción de toxina, además sirven de apoyo para los esfuerzos de los programas de salud pública. También ayudan a eliminar estreptococos coexistentes y *C. diphtheriae* de las vías respiratorias de pacientes o portadores. La resistencia antimicrobiana a tales agentes es rara.

Epidemiología, prevención y control

Antes de la inmunización artificial, la difteria era principalmente una enfermedad de niños pequeños. La infección ocurría en forma sintomática o asintomática en una etapa inicial y producía la propagación de la antitoxina en la población. Una infección asintomática durante la adolescencia y la edad adulta servía de estímulo para el mantenimiento de altas concentraciones de antitoxina. Por consiguiente, casi todos los miembros de la población, excepto los niños, eran inmunes.

Casi 75% de los niños entre seis y ocho años que viven en países en vías de desarrollo donde las infecciones cutáneas por *C. diphtheriae* son frecuentes tienen concentraciones séricas de antitoxina protectoras. La absorción de pequeñas cantidades de toxina de la difteria de la infección en la piel al parecer proporciona el estímulo antigénico para la respuesta inmunitaria; la cantidad de toxina que se absorbe no produce enfermedad.

A finales del siglo XX, la mayor parte de los países desarrollados anunciaron la eliminación de la difteria como resultado de estrategias de vacunación infantil exitosas. Sin embargo, entre 1990 y 1998, tuvo lugar un resurgimiento de difteria epidémica, principalmente en adultos, en la Federación Rusa y los estados recientemente independizados de la ex Unión Soviética. Esto probablemente fue resultado de la reducida cobertura de las campañas de vacunación, entre otros factores sociales. Dicho resurgimiento resalta con claridad la importancia de mantener la inmunización en todo el mundo.

La inmunización activa en la infancia con toxoide de la difteria genera concentraciones de antitoxina que por lo general son adecuadas hasta la edad adulta. Los adultos jóvenes deben recibir refuerzos del toxoide, porque los bacilos de la difteria toxígenos no tienen suficiente prevalencia en la población de muchos países desarrollados para proporcionar el estímulo de la infección asintomática con la estimulación de la resistencia. Las concentraciones de antitoxina disminuyen con el tiempo, y muchas personas de edad avanzada tienen cantidades insuficientes de antitoxina circulante para protegerlas contra la difteria.

Los principales objetivos de la prevención son limitar la distribución de los bacilos diftéricos toxígenos en la población y mantener un alto grado de inmunización activa posible.

Para limitar el contacto con los bacilos diftéricos a un mínimo, se debe aislar a los pacientes con difteria. Sin tratamiento, un gran porcentaje de las personas infectadas continúan eliminando los bacilos de la difteria durante semanas o meses después del restablecimiento (portadores convalecientes). Este peligro puede reducirse bastante mediante el tratamiento activo inicial con antibióticos.

Los toxoides diftéricos se combinan por lo general con toxoide tetánico (Td) y con vacuna de tosferina acelular (DaPT) como inyección sola para inmunización de niños (tres dosis: la primera antes de los 12 meses, la segunda entre los 15 a 18 meses y la tercera entre los cuatro y seis años de edad). Para la inyección de refuerzo en los adultos, sólo se utilizan toxoides Td o toxoides Td combinados con vacuna contra la tos ferina acelular (Tdap) (para una inyección única en las personas que recibieron la vacuna contra la tos ferina de célula entera durante la infancia); éstas combinan una dosis completa del toxoide tetánico con una dosis más pequeña diez veces mayor del toxoide de la difteria a fin de disminuir la posibilidad de reacciones adversas.

Todos los niños deben recibir un ciclo inicial de inmunizaciones y refuerzos. Los refuerzos periódicos con Td son muy importantes en los adultos que viajan a los países en vías de desarrollo, donde la frecuencia de la difteria clínica puede ser 1 000 veces mayor que en los países desarrollados, donde la inmunización es general.

OTRAS BACTERIAS CORINEFORMES

Se han identificado más de 88 especies del género *Corynebacterium,* 53 de ellas se han obtenido de infecciones en seres humanos. Las bacterias corineformes se clasifican en no lipófilas o lipófilas según su crecimiento al agregar lípidos al medio de cultivo. Las corinebacterias lipófilas crecen lentamente en agar

con sangre de oveja, generando colonias menores de 0.5 mm de diámetro después de 24 h de incubación. Las reacciones clave adicionales para la clasificación de las bacterias corineformes comprenden, pero no están limitadas, a las siguientes pruebas: metabolismo fermentativo u oxidativo, producción de catalasa, motilidad, reducción de nitrato, producción de ureasa e hidrólisis en esculina. Las especies del género *Corynebacterium* suelen ser inmóviles y productoras de catalasa. Las bacterias corineformes son residentes normales de las mucosas de la piel, las vías respiratorias, el sistema urinario y las conjuntivas.

Corinebacterias no lipófilas

El grupo de corinebacterias no lipófilas comprende múltiples especies que pueden diferenciarse con base en el metabolismo fermentativo u oxidativo. *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis* están relacionados en forma estrecha con *C. diphtheriae* y pueden portar el gen *tox* de la difteria. Mientras *C. ulcerans* toxigénica produce una enfermedad similar a la difteria, *C. tuberculosis* rara vez es patógena para el ser humano. En fecha reciente, se han obtenido informes esporádicos de mascotas portadoras de *C. ulcerans* toxígena, lo cual aumenta el interés acerca de un nuevo reservorio de transmisión de difteria a personas. Otras especies en el grupo no lipófilo fermentativo incluyen *Corynebacterium xerosis, Corynebacterium striatum, Corynebacterium minutissimum* y *Corynebacterium amycolatum*. Éstas son las bacterias corineformes aisladas con más frecuencia de material hospitalario. Hay pocos casos bien documentados de enfermedad causada por *C. minutissimum*, aunque el microorganismo a menudo se aísla de muestras clínicas. Desde el punto de vista histórico, *C. xerosis* y *C. striatum* han causado una variedad de infecciones en seres humanos. *C. striatum* se ha relacionado con infecciones de vías respiratorias hospitalarias, entre otras.

Las corinebacterias no fermentativas, *Corynebacterium pseudodiphthericum* y *Corynebacterium glucuronolyticum*, se han relacionado con infecciones del aparato respiratorio y urinario, de manera respectiva.

Corinebacterias lipófilas

Corynebacterium jeikeium es una de las bacterias corineformes que más suelen aislarse en pacientes graves. Puede causar enfermedad en personas inmunodeprimidas y es importante porque produce infecciones, incluida la bacteriemia, que tiene una elevada tasa de mortalidad y porque es resistente a muchos antimicrobianos de uso común. *Corynebacterium urealyticum* es una especie de desarrollo lento que es multirresistente a antibióticos. Como su nombre lo indica, es ureasapositiva. Se ha relacionado con infecciones de vías urinarias agudas o crónicas incrustadas en pacientes con factores predisponentes como cateterismo vesical prolongado, manipulaciones urológicas y tratamiento antimicrobiano de amplio espectro por tiempo prolongado. Desde el punto de vista clínico, la infección se manifiesta por pH urinario alcalino y formación de cristales, a menudo con obstrucción renal o vesical. El tratamiento consiste en retirar los cálculos obstructores y prescribir antibióticos glucopeptídicos.

Otros géneros corineformes

Existen muchos otros géneros y especies de bacterias corineformes. *Arcanobacterium haemolyticum* produce hemólisis β en el agar con sangre. A veces produce faringitis en adolescentes y adultos, y puede cultivarse en medios selectivos para estreptococos. *A. haemolyticum* no produce catalasa, al igual que los estreptococos del grupo A y se debe diferenciar por la morfología en la tinción de Gram (bastones frente a cocos) y las características bioquímicas. *A. haemolyticum* también se relaciona con infecciones de heridas y septicemia. La mayoría de las bacterias corineformes en los otros géneros son causas poco comunes de enfermedad y no suelen identificarse en el laboratorio clínico.

Rothia dentocariosa es un bacilo grampositivo que forma filamentos ramificantes. Se ha relacionado con abscesos y endocarditis, posiblemente después de entrar en la sangre desde la boca. El coco grampositivo, *Stomatococcus mucilaginosus,* se ha cambiado al género *Rothia (Rothia mucilaginosa*); es un residente frecuente de la cavidad bucal y se ha relacionado con bacteriemia en hospedadores graves y endocarditis en usuarios de drogas intravenosas.

Verificación de conceptos

- El grupo de bacilos aerobios grampositivos comprende un gran número de especies que van desde microbiota normal hasta microorganismos patógenos virulentos.
- El género *Corynebacterium* incluye al microorganismo patógeno *C. diphtheriae*, que es patógeno puesto que elabora una exotoxina potente, la toxina diftérica, que inhibe la síntesis de proteínas.
- La toxina diftérica se encuentra codificada en un bacteriófago lisógeno y es la causa de las manifestaciones circunscritas (por lo general faringitis membranosa) o generalizadas, como miocarditis e insuficiencia renal.
- En países desarrollados, la difteria es rara en la medida que se previene con programas de vacunación primaria y de refuerzo sostenidos; se ha visto su recurrencia en forma epidémica en intervalos de vacunación primaria.

LISTERIA MONOCYTOGENES

Existen varias especies del género *Listeria*. De éstas, *L. monocytogenes* es importante como causa de un amplio espectro de enfermedades en animales y seres humanos. *L. monocytogenes* es capaz de crecer y sobrevivir en una amplia gama de condiciones ambientales. Puede sobrevivir a temperaturas de refrigerador (4°C), bajo condiciones de pH bajo y condiciones de alto contenido de sal. Por lo tanto, puede superar la preservación de alimentos y las barreras de seguridad de manera que es un microorganismo patógeno importante transmitido en los alimentos. La información más reciente de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) indican que la listeriosis transmitida por alimentos va en descenso. No obstante, uno de los brotes más grandes y mortales de listeriosis en Estados Unidos (147 casos en 28 estados y más de 33 muertes) ocurridos en el año 2011 en melones contaminados provenientes de una empacadora en Colorado. Este brote subraya la naturaleza

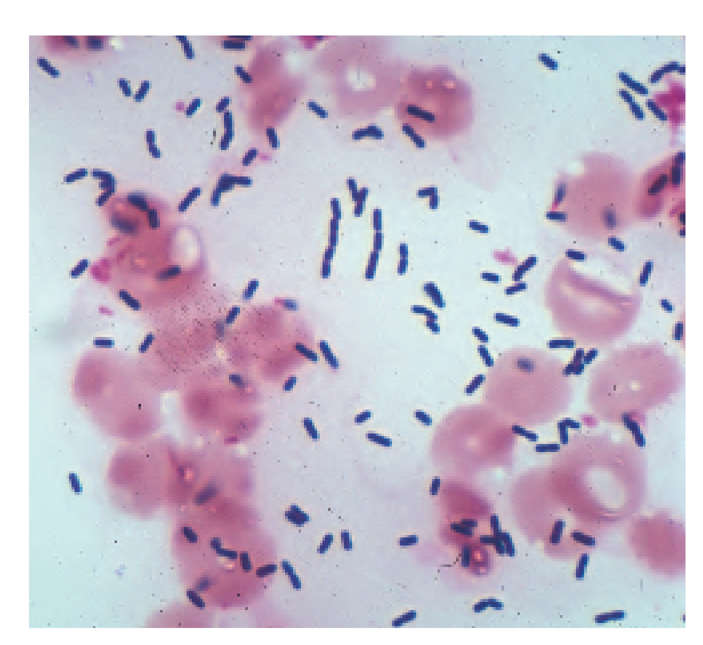


FIGURA 12-2 Tinción de Gram del bacilo grampositivo *Listeria monocytogenes* en un hemocultivo. Amplificación original × 1 000. Los eritrocitos están presentes en el fondo. La *Listeria* que se cultiva en muestra clínica a menudo exhibe variaciones de longitud y forma. Es característico que tengan un diámetro de 0.4 a 0.5 µm y una longitud de 0.5 a 2 µm. (Cortesía de H. Tran.)

universal de este microorganismo y su potencial para contaminar con facilidad gran variedad de alimentos durante cualquier etapa de su producción.

Características morfológicas e identificación

L. monocytogenes es un bacilo corto, grampositivo, no formador de esporas (figura 12-2). Produce catalasa y tiene una motilidad de extremo a extremo tambaleante a una temperatura de 22 a 28 °C pero no de 37 °C; la prueba de motilidad rápidamente diferencia a la *Listeria* de los difteroides que son miembros de la microbiota normal de la piel.

Características de cultivo y crecimiento

Listeria crece bien en medios como agar con sangre de cordero al 5% en el cual muestra la pequeña zona característica de hemólisis alrededor de las colonias y por debajo de las mismas. El microorganismo es un anaerobio facultativo y produce catalasa, hidrólisis de esculina y es móvil. *Listeria* produce ácido pero no gas por la utilización de diversos carbohidratos.

La motilidad a una temperatura ambiental y la producción de hemolisina son características primordiales que ayudan a diferenciar *Listeria* de las bacterias corineformes.

Clasificación antigénica

La clasificación serológica se lleva a cabo sólo en los laboratorios de referencia y se utiliza principalmente para los estudios epidemiológicos. Existen 13 serovariantes conocidas basadas en antígenos O (somáticos) y H (flagelares). Los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b constituyen más de 95% de las cepas de seres humanos. El serotipo 4b produce la mayor parte de los brotes epidémicos transmitidos en los alimentos. Se han desarrollado métodos basados en la genómica, mucho más rápidos por su menor laboriosidad, aunque la serotipificación persiste como el criterio de referencia.

Patogenia e inmunidad

L. monocytogenes entra en el cuerpo a través del aparato digestivo tras la ingestión de alimentos contaminados como quesos, frutas o verduras. El microorganismo tiene varias proteínas de adhesina (Ami, Fbp A y flagelina) que facilitan la fijación de las bacterias a las células hospedadoras y que contribuyen a la virulencia. Posee proteínas de superficie de la pared celular llamadas internalinas A y B que actúan de manera recíproca con la cadherina E, receptor de las células epiteliales, lo que fomenta su fagocitosis en las células epiteliales. Después de la fagocitosis, la bacteria es envuelta en un fagolisosoma, donde es activada por el pH bajo para producir listeriolisina O. Esta enzima produce lisis de la membrana del fagolisosoma y permite que las listerias escapen hacia el citoplasma de la célula epitelial. Los microorganismos proliferan y ActA, otra proteína de superficie de la listeria, activa la polimerización de la actina de la célula hospedadora, lo cual las impulsa hacia la membrana celular. Al empujar la membrana de la célula hospedadora, produce la formación de protrusiones elongadas denominadas filópodos, que son ingeridos por células epiteliales adyacentes, macrófagos y hepatocitos, las listerias son liberadas y el ciclo comienza de nuevo. *L. monocytogenes* se puede mover de una célula a otra sin estar expuesta a anticuerpos, complemento o células polimorfonucleares. *Shigella flexneri* y *rickettsias* también usurpan la actina y el sistema contráctil de las células hospedadoras para diseminar sus infecciones.

El hierro es un factor de virulencia importante. La listeria produce sideróforos y puede obtener hierro de la transferrina.

La inmunidad para *L. monocytogenes* es mediada principalmente por células, según se demuestra por la ubicación intracelular de la infección y por la notable relación de la infección con los estados que cursan con alteración de la inmunidad mediada por células como el embarazo, edad avanzada, sida, linfoma y trasplante de órganos. La inmunidad puede ser transferida por los linfocitos sensibilizados, pero no por los anticuerpos.

Manifestaciones clínicas

Existen dos formas de listeriosis humana perinatal. El síndrome de instauración inicial (**granulomatosis infantiséptica**) es el resultado de la infección *in utero* y es una forma diseminada de la enfermedad que se caracteriza por septicemia neonatal, lesiones pustulosas y granulomas que contienen *L. monocytogenes* en múltiples órganos. La muerte puede ocurrir antes o después del parto. El síndrome de inicio tardío produce la aparición de meningitis entre el nacimiento y la tercera semana de vida; a menudo es causada por el serotipo 4b y tiene una tasa de mortalidad importante.

Las personas sanas expuestas a *L. monocytogenes* en alimentos pueden no enfermar o desarrollar una gastroenteritis febril leve que se autolimita en uno a tres días. Ésta se desarrolla después de un periodo de incubación de 6 a 48 h. Los síntomas

incluyen fiebre, escalofrío, cefalea, mialgias, dolor abdominal y diarrea. Los individuos inmunodeprimidos pueden desarrollar meningoencefalitis por *Listeria*, bacteriemia y (raras veces) infecciones focales. La listeriosis es una de las causas más comunes de meningitis en este grupo de pacientes. La presentación clínica de la meningitis por *Listeria* varía de gradual a fulminante y es no específica. Por lo común, los laboratorios clínicos no efectúan un cultivo sistemático de *Listeria* a partir de muestras fecales y sistemáticas. El diagnóstico de listeriosis sistemática se basa en el aislamiento del microorganismo en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo.

La infección espontánea ocurre en muchos animales domésticos y salvajes. En los rumiantes (p. ej., las ovejas) la *Listeria* puede causar meningoencefalitis con o sin bacteriemia. En animales más pequeños (p. ej., conejos y gallinas) ocurre septicemia con abscesos focales en el hígado y en músculo cardiaco, así como una monocitosis intensa.

Muchos antimicrobianos inhiben a la *Listeria in vitro*. Se han obtenido curaciones clínicas con ampicilina, eritromicina o con trimetoprim-sulfametoxazol administrado por vía intravenosa. Las cefalosporinas y las fluoroquinolonas no son activas contra *L. monocytogenes*. La ampicilina más la gentamicina suele recomendarse para el tratamiento, pero la gentamicina no entra en las células hospedadoras y puede no ser útil para tratar la infección por *Listeria*. El fármaco de elección para las infecciones del sistema nervioso central en pacientes que son alérgicos a la penicilina es el trimetoprim-sulfametoxazol.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE

Erysipelothrix rhusiopathiae es un bacilo grampositivo que produce pequeñas colonias transparentes de aspecto brillante. Puede ser hemolítico α en agar con sangre. En las tinciones de Gram, a veces muestran aspecto gramnegativo porque se decolora con facilidad. Las bacterias pueden aparecer en forma individual, en cadenas cortas, distribuidas al azar o en filamentos largos no ramificantes. La morfología de la colonia y el aspecto en la tinción de Gram varían dependiendo del medio de crecimiento, la temperatura de incubación y el pH. *Erysipelothrix* no produce catalasa, oxidasa ni indol. Cuando se cultiva *Erysipelothrix* en agar con hierro y triple glúcido (TSI, *triple sugar iron*), se produce sulfuro de hidrógeno (H_2S), y hace que el TSI adopte un color negro.

E. rhusiopathiae debe diferenciarse de *L. monocytogenes, Trueperella* y *A. haemolyticum*, pero estas tres especies son hemolíticas β y no producen H_2S cuando se cultivan en medio de TSI. Es más difícil diferenciar *E. rhusiopathiae* de lactobacilos aerotolerantes; los dos pueden ser hemolíticos α. No producen catalasa y son resistentes a la vancomicina (80% de los lactobacilos). Además, algunas cepas de lactobacilos producen H_2S de una forma muy parecida a *E. rhusiopathiae.*

E. rhusiopathiae se distribuye en animales de tierra y mar en todo el mundo, lo que comprende diversos vertebrados e invertebrados. Es causa de enfermedad en cerdos domésticos, pavos, patos y ovejas, pero no en peces. Las repercusiones más importantes aparecen en los cerdos, en los que produce erisipela. En el ser humano, la erisipela se origina por estreptococos hemolíticos β del grupo A y es muy diferente de la erisipela porcina. Las personas adquieren la infección por *E. rhusiopathiae* por la inoculación directa de animales o productos animales. Las personas con máximo riesgo son pescadores, personas que manipulan pescado, trabajadores de rastros, carniceros y otras personas que tienen contacto con productos animales.

La infección por *E. rhusiopathiae* más frecuente en el ser humano se denomina erisipeloide. Por lo general ocurre en los dedos por la inoculación directa en el lugar de una herida o una abrasión (y se ha denominado "dedo de foca" y "dedo de ballena"). Después de la incubación de dos a siete días, ocurre dolor (que llega a ser intenso) y edema. La lesión está elevada, bien circunscrita y es de color violáceo. No suele haber pus en el lugar de la infección, lo que ayuda a distinguirla de las infecciones cutáneas estafilocócicas y estreptocócicas. La erisipeloide puede resolverse después de tres a cuatro semanas o con más rapidez mediante antibioticoterapia. Las formas clínicas adicionales de la infección (ambas poco comunes) son una forma cutánea difusa y la bacteriemia con o sin endocarditis. También se ha informado artritis séptica. *Erysipelothrix* es muy susceptible a la penicilina G, el fármaco de elección para las infecciones graves. El microorganismo es intrínsecamente resistente a la vancomicina.

Verificación de conceptos

- Tanto *L. monocytogenes* como *E. rhusiopathiae* están distribuidas ampliamente en la naturaleza y generan enfermedades importantes en el ser humano.
- *L. monocytogenes* suele transmitirse por el consumo de alimentos preparados contaminados, como carnes frías o frutas y vegetales.
- Una vez ingerido, el microorganismo manipula su propia fagocitosis a través de diversos tipos de células y puede vivir dentro de otras células, además de diseminarse, provocando bacteriemia y meningitis en los pacientes con una inmunidad celular deficiente.
- *Erysipelothrix* por lo general se adquiere por inoculación directa a partir de una fuente contaminada como escamas de pescado, lo que resulta en erisipeloide, que es una variedad nodular de celulitis.
- *E. rhusiopathiae* es singular entre los bacilos grampositivos en el sentido de que produce H_2S en la prueba con TSI.
- Ambos patógenos son susceptibles a la penicilina, el tratamiento de elección.

ACTINOMYCETES AEROBIOS COMPLEJOS

Los actinomycetes aerobios (no deben confundirse con el género *Actinomyces*) forman un grupo grande y diverso de bacilos grampositivos con una tendencia a formar cadenas o filamentos. Incluyen las corinebaterias comentadas al comienzo del capítulo y múltiples géneros más complejos como *Streptomyces* saprofítico y el *Mycobacterium* de importancia clínica (capítulo 23). A medida que crecen los bacilos, las células se mantienen unidas tras la división para formar cadenas alargadas de bacterias (1 μm de amplitud) con ramas ocasionales. La magnitud de este proceso varía en diferentes taxones. Es rudimentaria en algunos actinomicetos, las cadenas son cortas, se

rompen y se separan después de la formación; otras presentan sustrato extenso o filamentos aeriales (o ambos); o se fragmentan en formas cocobacilares. Los miembros de actinomicetos aerobios pueden clasificarse basándose en la tinción acidorresistente. Las micobacterias son microorganismos acidorresistentes verdaderamente positivos; los géneros débilmente positivos comprenden *Nocardia, Rhodococcus* y algunos otros de importancia clínica. *Streptomyces* y *Actinomadura,* dos compuestos que producen micetomas actinomicóticos, son negativos para la tinción acidorresistente.

Rhodococcus equi parece ser un bacilo después de algunas horas de incubación en caldo, pero con la incubación adicional se convierte en una forma cocoide. Esta especie de *Rhodococcus* a menudo también produce colonias pigmentadas después de 24 h de incubación que van desde el color rosa salmón hasta el rojo. Los microorganismos por lo general son débilmente acidorresistentes positivos cuando se tiñen por el método de Kinyoun modificado. *R. equi* a veces produce infecciones como neumonía necrosante en pacientes inmunodeprimidos con inmunidad anómala mediada por células (p. ej., pacientes con VIH o sometidos a trasplante de órganos). *R. equi* está presente en la tierra y en excremento de herbívoros. El microorganismo es una causa esporádica de enfermedad en ganado vacuno, corderos y cerdos, y puede ser causa de infecciones pulmonares graves en potros. Otras especies del género diverso *Rhodococcus* están presentes en el medio ambiente pero raras veces producen enfermedad en el ser humano.

NOCARDIOSIS

El género *Nocardia* sigue experimentando considerable reclasificación taxonómica. Continúan reconociéndose nuevas especies y se han implicado por lo menos 30 especies como causas de infecciones humanas.

En el cuadro 12-1 se enumeran las especies que con mayor frecuencia se vinculan con la mayor parte de los casos de infecciones en el ser humano. Cada una de estas especies es causa de una amplia gama de enfermedades y cada especie o complejo tiene patrones de susceptibilidad a fármacos singulares. Las nocardias patógenas, como muchas especies no patógenas de *Nocardia*, se encuentran en todo el mundo en la tierra y el agua. La nocardiosis se inicia por la inhalación de estas bacterias. El cuadro clínico habitual es una infección pulmonar subaguda a crónica que puede diseminarse a otros órganos, por lo general el cerebro o la piel. Las nocardias no se transmiten de persona a persona.

Morfología e identificación

Las especies del género *Nocardia* son aerobias y se cultivan en diversos medios. En muestras clínicas, las nocardias aparecen, microscópicamente, como microorganismos filamentosos con ramificaciones hifoides. En los medios de laboratorio habituales, después de incubación a 35 a 37 °C por varios días, se desarrollan colonias serosas amontonadas e irregulares. La pigmentación de las cepas varía de blanco a naranja y rojo. Tales bacterias son grampositivas y catalasa positivas; producen ureasa. Las nocardias forman sustratos ramificantes extensos y filamentos aeriales que se fragmentan después de la formación; emergen como células cocobacilares. Las paredes celulares contienen ácidos micólicos que son de cadena más corta que las de las micobacterias. Se les considera débilmente acidorresistentes, esto es, se tiñen con el reactivo acidorresistente habitual (carbol-fucsina) y conservan este colorante después del tratamiento con ácido sulfúrico del 1 a 4% en lugar de utilizar el decolorante más potente ácido-alcohol. Las especies de *Nocardia* se identifican principalmente por medio de métodos moleculares como secuencias de genes rRNA 16S y el análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP, *restriction fragment length polymorphisms*), y fragmentos de genes amplificados como *hsp* o *secA*.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Casi en todos los casos, la nocardiosis es una infección oportunista relacionada con varios factores de riesgo, la mayor parte de los cuales alteran las respuestas inmunitarias mediadas por células, incluyendo el tratamiento con corticosteroides, la inmunodepresión, el trasplante de órganos, el sida y el alcoholismo. La nocardosis pulmonar es la presentación clínica principal, dado que la inhalación es la vía primaria de exposición a la bacteria. Puede tener lugar una variedad de síntomas, incluidos fiebre, sudor nocturno, pérdida de peso, dolor torácico, tos con o sin producción de esputo y disnea. Las manifestaciones clínicas no son distintivas y remedan tuberculosis y otras infecciones. Asimismo, las radiografías torácicas pueden mostrar infiltrados focales, nódulos multifocales incluso formación de cavidad. Las consolidaciones pulmonares pueden desarrollarse, pero son raras la formación de granuloma y la caseificación. El proceso patológico usual es la formación de absceso (inflamación por neutrófilos). La diseminación hematógena desde el pulmón a menudo involucra al sistema nervioso central, donde los abscesos se desarrollan en el cerebro, lo que se traduce en una variedad de presentaciones clínicas. Algunos pacientes tienen afectación pulmonar subclínica y se presentan con lesiones cerebrales. También puede ocurrir diseminación a piel, riñones, ojos u otros sitios.

Nocardia brasiliensis se relaciona con la mayor parte de infecciones cutáneas primarias que por lo general resultan de traumatismo. Tales infecciones raramente se diseminan.

Pruebas de laboratorio diagnósticas

Las muestras consisten en esputo, pus, líquido cefalorraquídeo y material de biopsia. Los frotis con tinción de Gram revelan bacilos grampositivos, células cocobacilares y filamentos ramificados. Con la tinción acidorresistente modificada, la mayor parte de las cepas serán acidorresistentes. Las bacterias del género *Nocardia* se desarrollan en casi todos los medios de laboratorio. Las pruebas serológicas no son útiles. Se necesitan métodos moleculares para identificarlos a nivel de especie, lo que es necesario para fines tanto epidemiológicos como terapéuticos.

Tratamiento

El tratamiento de elección es trimetoprim-sulfametoxazol. Cuando los pacientes no responden, utilizan otros antibióticos diversos con éxito, como amicacina, imipenem, meropenem,

fluoroquinolonas, minociclina, linezolida y cefotaxima. Sin embargo, puesto que los patrones de sensibilidad varían según la especie, es necesario realizar pruebas de sensibilidad para guiar el método terapéutico. Además de tratamiento antimicrobiano por lo general prolongado, puede ser necesario el drenaje quirúrgico o bien la resección.

Verificación de conceptos

- Varios miembros del amplio grupo de actinomicetos aerobios son acidorresistentes modificados, principalmente *Nocardia* y *R. equi.*
- Las especies de *Nocardia* son bacilos grampositivos ramificados, con forma de microesferas, encontradas en la tierra y otros ecosistemas que producen una enfermedad generalizada principalmente en personas inmunodeprimidas.
- Las especies de *Nocardia* son las mejor identificadas después de su recuperación por medios de cultivo habituales con uso de métodos moleculares como secuenciación del gen rRNA 16S u otros blancos génicos.
- El fármaco de elección para el tratamiento de las infecciones por *Nocardia* es el trimetoprim-sulfametoxazol. El uso de otros medicamentos dependerá de los resultados de las pruebas de sensibilidad.

ACTINOMICETOMA

El micetoma (pie de Madura) es una infección crónica, circunscrita, lentamente progresiva que comienza en el tejido subcutáneo y se disemina a los tejidos adyacentes; es destructiva y a menudo indolora. En muchos casos, la causa es un hongo de la tierra que se ha implantado en el tejido subcutáneo por traumatismos leves. Esta forma de micetomas se describe en el capítulo 45. Un actinomicetoma se produce por bacterias ramificantes filamentosas. El gránulo de actinomicetoma consta de elementos de tejido y bacilos grampositivos y cadenas bacilares o filamentos (1 μm de diámetro). Las causas más frecuentes de actinomicetomas son *Actinomadura madurae, Streptomyces somaliensis, Actinomadura pelletieri, Nocardia asteroides* y *Nocardia brasiliensisy.* Estos y otros actinomicetos patógenos se diferencian por las pruebas bioquímicas y por el análisis cromatográfico de los componentes de la pared celular, y técnicas moleculares. Los actinomicetomas responden bien a diversas combinaciones de estreptomicina, trimetoprim-sulfametoxazol y dapsona si el tratamiento se comienza en las primeras etapas antes de que haya ocurrido una lesión considerable. En la enfermedad avanzada puede requerirse la amputación.

Muchos de los estudiantes se confunden con los términos "actinomicetos" y "actinomicosis". Los primeros ya se describieron antes; la actinomicosis es una infección causada por miembros del género grampositivo anaerobio *Actinomyces.* Los hongos del género *Actinomyces* y la enfermedad actinomicosis se describen con más detalle en el capítulo 21.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Hace tres meses una mujer de 53 años de edad fue sometida a una intervención quirúrgica y recibió quimioterapia por cáncer de mama. Hace cuatro semanas presentó una tos esporádicamente productiva de esputo purulento. Hace dos semanas, observó debilidad leve pero progresiva en el brazo izquierdo y en la pierna. En la exploración del tórax, se auscultaron estertores sobre la parte superior e izquierda de la espalda cuando la paciente respiraba profundamente. La exploración neurológica confirmó la debilidad del brazo y la pierna del lado izquierdo. La radiografía de tórax mostró un infiltrado en el lóbulo superior izquierdo. La tomografía computarizada (CT, *computed tomography*) intensificada con medio de contraste demostró dos lesiones en el hemisferio derecho. La tinción de Gram de un espécimen de esputo purulento demostró bacilos grampositivos ramificantes que eran parcialmente acidorresistentes. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa del padecimiento actual de esta paciente?
   (A) *Actinomyces israelii*
   (B) *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
   (C) *Aspergillus fumigatus*
   (D) *Nocardia farcinica*
   (E) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
2. El fármaco de elección para tratar la infección de la paciente (pregunta 1) es:
   (A) Penicilina G
   (B) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (C) Gentamicina
   (D) Anfotericina B
   (E) Una cefalosporina de tercera generación
3. Es muy difícil diferenciar *Erysipelothrix rhusiopathiae* de:
   (A) *Corynebacterium diphtheriae*
   (B) *Bacillus cereus*
   (C) *Actinomyces israelii*
   (D) *Nocardia asteroides*
   (E) Bacterias del género *Lactobacillus*
4. El movimiento de *Listeria monocytogenes* en el interior de las células hospedadoras es causado por:
   (A) La activación de la polimerización de la actina en la célula hospedadora
   (B) La formación de pilosidades (fimbria) en la superficie de las listerias
   (C) Formación de seudópodos
   (D) El movimiento de flagelos de las listerias
   (E) Motilidad tambaleante
5. Un niño de ocho años de edad, que recientemente llegó a Estados Unidos, desarrolla dolor de garganta grave. En la exploración, se observa exudado grisáceo (seudomembrana) sobre las amígdalas y la faringe. El diagnóstico diferencial de la faringitis grave como ésta comprende infección por estreptococos del grupo A, infección por el virus de Epstein-Barr (EBV), faringitis por *Neisseria gonorrhoeae* y difteria. La causa de la faringitis del niño muy posiblemente es:
   (A) Un bacilo gramnegativo
   (B) Un virus de RNA monocatenario de polaridad positiva
   (C) Un coco grampositivo productor de catalasa que se desarrolla en racimos
   (D) Un bacilo grampositivo de forma de bastón
   (E) Un virus de RNA bicatenario
6. El mecanismo principal en la patogenia de la enfermedad del niño (pregunta 5) es:
   (A) Un incremento neto del monofosfato de adenosina cíclico intracelular
   (B) La acción de una exotoxina pirógena (un súper antígeno)
   (C) Inactivación de la acetilcolina esterasa
   (D) Acción de la enterotoxina A
   (E) Inactivación del factor de elongación 2

7. *Corynebacterium jeikeium* es
   (A) Catalasa negativa
   (B) Gramnegativo
   (C) A menudo resistente a los antibióticos usuales
   (D) Móvil
   (E) Frecuente pero clínicamente no importante
8. ¿Cuál de los siguientes bacilos grampositivos aerobios es acidorresistente positivo modificado?
   (A) *Nocardia brasiliensis*
   (B) *Lactobacillus acidophilus*
   (C) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
   (D) *Listeria monocytogenes*
9. La difteria cutánea se presenta en los niños en zonas tropicales que por lo general:
   (A) No ocurre en niños que se han inmunizado con toxoide diftérico
   (B) Es clínicamente diferente de las infecciones cutáneas (piodermia, impétigo) causadas por *Streptococcus pyogenes y Staphylococcus aureus*
   (C) También es frecuente en las latitudes del Norte
   (D) Produce concentraciones de antitoxina protectora en casi todos los niños entre los seis y ocho años de edad
   (E) Produce miocardiopatía mediada por toxinas
10. Un pescador de 45 años de edad se ensartó un anzuelo en el dedo medio derecho. Los retiró y no buscó tratamiento médico inmediato. Cinco días después, presentó fiebre, dolor intenso y una tumefacción nodular en el dedo. Buscó atención médica. Se aspiró el nódulo violáceo y después de 48 h de incubación, se observaron colonias de un bacilo grampositivo que producía pigmentación verdosa del agar y formaba ligamentos largos en el caldo de cultivo. La causa más probable de esta infección es:
   (A) *Lactobacillus acidophilus*
   (B) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
   (C) *Listeria monocytogenes*
   (D) *Rhodococcus equi*
   (E) *Nocardia brasiliensis*
11. Una reacción bioquímica que es útil para identificar el microorganismo causal de la infección de la pregunta 10 es:
   (A) Catalasa positiva
   (B) Acido-resistencia utilizando la tinción de Kinyoun modificada
   (C) Hidrólisis de esculina
   (D) Motilidad tambaleante
   (E) Producción de H_2S
12. *Listeria monocytogenes* es a menudo un microorganismo patógeno transmitido por alimentos puesto que:
   (A) Puede sobrevivir a 4 °C
   (B) Sobrevive en un ambiente con un pH bajo
   (C) Sobrevive en presencia de una concentración elevada de sal
   (D) Todas las anteriores son correctas
13. Una vez que se obtiene en el medio de cultivo de laboratorio, los Actinomicetos aerobios se identifican mejor por medio de:
   (A) Un sistema automatizado en el laboratorio
   (B) Los estudios bioquímicos clásicos
   (C) Pruebas de detección de antígenos como ELISA
   (D) Métodos moleculares como secuencia de genes rRNA 16S
14. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre *Rhodococcus equi* es correcta?
   (A) Se transmite de persona a persona
   (B) Produce tuberculosis en el ganado
   (C) Es una causa rara de infección pulmonar en el hombre
   (D) Produce un pigmento negro en el agar con sangre de oveja
15. Un paciente hospitalizado con sonda de Foley manifiesta fiebre, escalofrío, dolor suprapúbico y dificultad para orinar 48 h después de extraer la sonda. Su vejiga parece obstruida y en el examen general de orina exhibe leucocitos y bacterias. La cistoscopia revela un gran cálculo vesical y en el urocultivo crecen más de 10 000 CFU/ml de un bacilo grampositivo corto e irregular. El microorganismo más probable es:
   (A) *Corynebacterium urealyticum*
   (B) *Nocardia brasiliensis*
   (C) *Actinomadura*
   (D) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
   (E) *Lactobacillus acidophilus*

Respuestas

1. D	5. D	9. D	13. D
2. B	6. E	10. B	14. C
3. E	7. C	11. E	15. A
4. A	8. A	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Bernard K: The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneforms-like bacteria. *J Clin Microbiol* 2012;50: 3152-3158.

Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ Jr: Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 2006;9:259-282.

Conville PS, Witebsky FG: *Nocardia, Rhodococcus Gordonia, Actinomadura, Streptomyces, and other aerobic Actinomycetes*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al*.: (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.

Deng Q, Barbieri JT: Molecular mechanisms of the cytotoxicity of ADP-ribosylating toxins. *Annu Rev Microbiol* 2008;62:271-288.

Drevets DA, Bronze MS: *Listeria monocytogenes*: Epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;53:151-165.

Freitag NE, Port GC, Miner MD: *Listeria monocytogenes*—from saprophyte to intracellular pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:623-628.

Funke G, Bernard KA: Coryneform gram-positive rods. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al*.: (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.

MacGregor RR: *Corynebacterium diphtheriae*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, *et al*.: Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N Engl J Med*. 2013;369:944-953.

Reboli AC, Farrar WE: *Erysipelothrix rhusiopathiae*: An occupational pathogen. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:354.

Van de Sande WWJ: Global burden of human mycetoma: A systemic review and meta-analysis. *PLoS Neg Trop Dis* 2013;7:e2550.

Wilson JW: 2012. Nocardiosis: Updates and clinical overview. *Mayo Clin Proc* 2012;87:403-407.

Zakikhany K, Efstratiou A: Diphtheria in Europe: Current problems and new challenges. *Future Med* 2012;7:595-607.

CAPÍTULO

13

Estafilococos

Los estafilococos son células esféricas grampositivas por lo general dispuestas en racimos irregulares parecidos a las uvas. Se desarrollan con rapidez en muchos tipos de medios y tienen actividad metabólica, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que van desde un color blanco hasta un amarillo intenso. Algunos son miembros de la microbiota normal de la piel y mucosas del ser humano; otros causan supuración, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas e incluso septicemia letal. Los estafilococos patógenos suelen producir hemólisis, coagular el plasma y producir diversas enzimas y toxinas extracelulares. El tipo de intoxicación alimentaria más frecuente se debe a una enterotoxina estafilocócica termoestable. Los estafilococos desarrollan con rapidez resistencia a muchos antimicrobianos y pueden plantear problemas terapéuticos difíciles.

El género *Staphylococcus* tiene por lo menos 45 especies. Las cuatro especies encontradas con mayor frecuencia y las más importantes en términos clínicos son *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus lugdunensis* y *Staphylococcus saprophyticus*. *S. aureus* es **coagulasa positivo**, lo cual lo distingue de otras especies. *S. aureus* es un patógeno importante en el ser humano. Casi todas las personas presentarán algún tipo de infección por *S. aureus* durante su vida, la cual fluctúa en gravedad desde una intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas leves hasta infecciones graves que ponen en riesgo la vida. Los estafilococos coagulasa negativos son microbiota humana normal y a veces causan infecciones, a menudo relacionadas con dispositivos implantados, como prótesis articulares, derivaciones y catéteres intravasculares, sobre todo en los niños muy pequeños, en los ancianos y en los pacientes inmunodeprimidos. Alrededor de 75% de estas infecciones causadas por estafilococos **coagulasa negativos** se deben a *S. epidermidis;* las infecciones debidas a *Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus warneri, Staphylococcus hominis* y otras especies son menos frecuentes. *S. saprophyticus* es una causa relativamente frecuente de infecciones urinarias en mujeres jóvenes, aunque pocas veces produce infecciones en pacientes hospitalizados. Otras especies son importantes en medicina veterinaria.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los estafilococos son bacterias esféricas de casi 1 μm de diámetro dispuestas en racimos irregulares (figura 13-1). También se observan cocos individuales, pares, tétradas y cadenas en medios de cultivo líquidos. Los cocos jóvenes son intensamente grampositivos; al envejecer, muchas células se vuelven gramnegativas. Los estafilococos no son móviles y no forman esporas. Bajo la acción de ciertos fármacos como penicilina, los estafilococos se lisan.

Las especies del género *Micrococcus* suelen parecerse a los estafilococos. Viven libremente en el ambiente y forman paquetes regulares de cuatro (tétradas) u ocho cocos. Sus colonias pueden ser de color amarillo, rojo o naranja. Los micrococos pocas veces producen enfermedad.

B. Cultivo

Los estafilococos crecen con rapidez en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerofílicas. Se desarrollan con más rapidez a una temperatura de 37 °C, pero forman pigmento mejor a una temperatura ambiente (20 a 25 °C). Las colonias en medios sólidos son redondas, lisas, elevadas y brillantes (figura 13-2). *S. aureus* suele formar colonias de color gris a amarillo dorado profundo. Las colonias de *S. epidermidis* por lo general son grises a blancas en el aislamiento primario; muchas colonias forman pigmento sólo tras una incubación prolongada. No se produce pigmento en condiciones anaerobias o en caldo. *S. aureus* produce diversos grados de hemólisis y a veces otras especies también. Las especies de los géneros *Peptostreptococcus* y especies de *Peptoniphilus,* que son cocos anaerobios, a menudo se parecen a los estafilococos en sus características morfológicas. El género *Staphylococcus* contiene dos especies, *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie *anaerobius,* que al principio se desarrollan sólo bajo condiciones anaerobias, pero que se vuelven más aerotolerantes en los subcultivos. Esto también se observa rara vez con algunas cepas de *S. epidermidis.*

C. Características de crecimiento

Los estafilococos producen catalasa, lo cual los distingue de los estreptococos. Los estafilococos fermentan con lentitud muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas. La actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra. Los estafilococos patógenos producen muchas sustancias extracelulares, toxinas y enzimas, las cuales se describen más adelante.

Los estafilococos son relativamente resistentes a la desecación, al calor (resisten una temperatura de 50 °C durante 30 min) y al cloruro de sodio al 10%, pero son inhibidos con facilidad por determinadas sustancias químicas, por ejemplo, hexaclorofeno al 3 por ciento.

Los estafilococos tienen una sensibilidad variable a muchos antimicrobianos. La resistencia es secundaria a varios mecanismos:

apter 13_Carroll_4R.indd 203 14/04/16

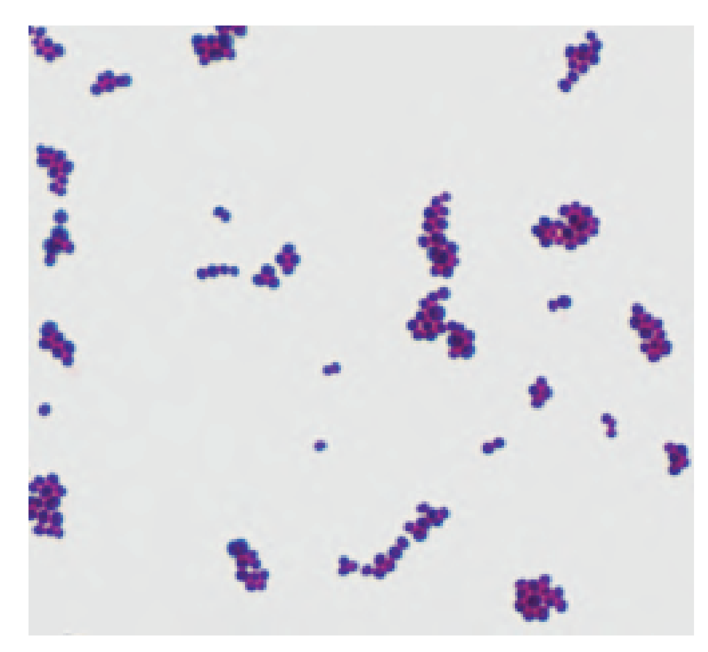


FIGURA 13-1 Tinción de Gram de *Staphylococcus aureus* que muestra cocos grampositivos dispuestos en pares, tétradas y racimos. Amplificación original ×1000. (Cortesía de L. Ching.)

1. La producción de lactamasa β es frecuente, está sujeta a control por plásmidos y hace que los microorganismos sean resistentes a muchas penicilinas (penicilina G, ampicilina, ticarcilina, piperacilina y fármacos afines). Los plásmidos son transmitidos mediante transducción y tal vez también mediante conjugación.
2. La resistencia a la nafcilina (y a la meticilina y la oxacilina) es independiente de la producción de lactamasa β. La resistencia a la nafcilina es codificada y regulada por una serie de genes que se encuentran en una región del cromosoma denominada cromosomas en casete estafilocócicos *mec* (*SCCmec, staphylococcal cassette chromosome mec*). De manera específica, el gen *mecA* y el recién descrito gen *mecC* en este *locus* codifican una proteína fijadora de penicilina (PBP2a, *penicillin binding protein*) de baja afinidad que es la encargada de la resistencia. Hay 12 tipos diferentes de *SCCmec*. Los tipo I, II, III, VI y VIII se relacionan con infecciones intrahospitalarias y pueden contener genes que codifican la resistencia también a otros antimicrobianos. *SCCmec* tipo IV se ha encontrado principalmente en *S. aureus* extrahospitalario resistente a meticilina (CA-MRSA, *community-acquired methicillin-resistant S. aureus*) y tiende a ser menos resistente, más contagioso y ha producido brotes en la última década en Estados Unidos y algunos países de Europa. Los tipos IX y X se relacionan con animales (MRSA asociado a ganado [*livestock-associated MRSA*, LA-MRSA]; de ellos el IX contiene *mecC*. Los demás tipos se limitan a diversas regiones geográficas del mundo.
3. En Estados Unidos, *S. aureus* y *S. lugdunensis* se consideran sensibles a la vancomicina cuando la concentración inhibidora mínima (MIC) es de 2 μg/mL o menos; de sensibilidad intermedia cuando la MIC es de 4 a 8 μg/mL; y resistentes cuando la MIC es de 16 μg/mL o más. Las cepas de *S. aureus* con sensiblidad intermedia a la vancomicina se han aislado en Japón, Estados Unidos y varios otros países. A menudo se conocen como *S. aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA, *vancomycin-intermediate S. aureus*). Por lo general se han aislado de pacientes con infecciones complejas que han recibido tratamiento prolongado con vancomicina. A menudo el tratamiento con vancomicina ha sido ineficaz. El mecanismo de la resistencia se relaciona con un incremento en la síntesis de pared celular y alteraciones de la misma y no se debe a los genes *van* que se encuentran en los enterococos. Las cepas de *S. aureus* de sensibilidad intermedia a la vancomicina por lo general son resistentes a nafcilina, pero generalmente son sensibles a las oxazolidinonas y a quinupristina/dalfopristina.
4. Desde 2002, se aislaron varias cepas de *S. aureus* resistente a vancomicina (VRSA, *vancomycin-resistant S. aureus*) en pacientes estadounidenses. Las cepas contenían el gen de la resistencia a vancomicina *vanA* de los enterococos (capítulo 14) y el gen de resistencia a nafcilina *mecA* (véase antes). Las dos cepas iniciales de VRSA eran sensibles a los otros antibióticos. La resistencia de *S. aureus* a vancomicina es un problema importante en todo el mundo.
5. La resistencia mediada por plásmido a tetraciclinas, eritromicina, aminoglucósidos y otros fármacos es frecuente en los estafilococos.
6. La “tolerancia” implica que los estafilococos son inhibidos por un fármaco pero no destruidos por el mismo; es decir, hay una gran diferencia entre las concentraciones mínimas inhibidoras y las concentraciones mínimas letales de un antimicrobiano. Los pacientes con endocarditis causada por un *S. aureus* tolerante pueden tener una evolución clínica prolongada en comparación con los individuos que tienen endocarditis causada por un *S. aureus*



FIGURA 13-2 Colonias de *Staphylococcus aureus* en una placa de agar sangre después de la incubación durante 24 h. Las colonias de color gris amarillo tienen 3 a 4 mm de diámetro en la placa de 10 cm. Las colonias están rodeadas por zonas claras de hemólisis de casi 1 cm de diámetro. (Cortesía de H. Reyes.)

completamente sensible. La tolerancia a veces puede atribuirse a la falta de activación de enzimas autolíticas en la pared celular.

D. Variación

Un cultivo de estafilococos contiene algunas bacterias que difieren de la mayor parte de la población en su expresión de características de la colonia (tamaño de la colonia, pigmento, hemólisis), en la elaboración de enzimas, en la resistencia a fármacos y en su patogenicidad. *In vitro*, la expresión de estas características está sujeta a la influencia de las condiciones de desarrollo: cuando se incuba *S. aureus* resistente a nafcilina a una temperatura de 37 °C en agar sangre, uno de cada 10^7 microorganismos expresa resistencia a nafcilina; cuando se incuba a una temperatura de 30 °C en agar que contiene cloruro de sodio al 2 a 5%, uno de cada 10^3 microorganismos expresa resistencia a nafcilina. Algunas cepas pueden desarrollar alteraciones fenotípicas, como un tamaño más pequeño (colonias puntiformes) y pérdida de hemólisis. A éstas se les denomina variantes de colonias pequeñas (SCV, *small colony variants*) y las variaciones de las características fenotípicas permiten una mejor supervivencia bajo condiciones intracelulares, lo cual facilita la persistencia y conduce a infecciones crónicas.

Estructura antigénica

S. aureus tiene una sorprendente capacidad adaptativa. La secuenciación del genoma completo de numerosas cepas (www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/154) ha aclarado la evolución de varias estructuras, toxinas y enzimas que este microorganismo ha desarrollado con el transcurso del tiempo. *S. aureus* ha adquirido muchos elementos genéticos móviles (p. ej., secuencias de inserción, transposones, etc.) que determinan tanto su patogenicidad como su resistencia antimicrobiana (véase Regulación de los determinantes de virulencia).

Los estafilococos contienen polisacáridos antigénicos y proteínas, al igual que otras sustancias importantes en la estructura de la pared celular. El peptidoglucano, un polímero polisacárido grueso que contiene subunidades vinculadas, da rigidez al exoesqueleto de la pared celular y ancla las adhesinas (véase luego). El peptidoglucano se destruye con acidez potente o exposición a lisozima. Es importante en la patogenia de la infección: induce la producción de interleucina 1 (pirógeno endógeno) y anticuerpos opsónicos por monocitos, y puede ser un factor quimiotáctico para los leucocitos polimorfonucleares, tienen actividad endotoxinoide y activan el complemento. El ensamble de peptidoglucanos es blanco de β lactámicos y antimicrobianos glucopeptídicos.

Los ácidos teicoicos, que son polímeros de fosfato de polirribitol, están vinculados por entrecruzamiento con el peptidoglucano y pueden ser antigénicos. Son importantes en el metabolismo de la pared celular. Los anticuerpos de ácido antiteicoico detectables por difusión en gel pueden encontrarse en pacientes con endocarditis activa causada por *S. aureus*.

La proteína A es un componente de la pared celular de las cepas de *S. aureus* y es una proteína de la superficie bacteriana que se ha descrito de entre un grupo de adhesinas denominadas *componentes microbianos superficiales reconocedores de moléculas de adhesión de la matriz* (MSCRAMMS, *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*). La adhesión bacteriana a las células anfitrionas es mediada por MSCRAMMS y estos son factores de virulencia importantes. La proteína A se une a la porción Fc de las moléculas de IgG excepto IgG_3. La porción Fab de la IgG unida a la proteína A está libre para combinarse con un antígeno específico. La proteína A se ha convertido en un reactivo importante en inmunología y en tecnología de laboratorio diagnóstico; por ejemplo, la proteína A con las moléculas de IgG adheridas dirigidas contra un antígeno bacteriano específico aglutinarán bacterias que tienen ese antígeno ("**coaglutinación**"). Otro MSCRAMM importante es el factor de aglutinación que se encuentra en la superficie de la pared celular; este factor aglutinador se une en forma no enzimática al fibrinógeno y las plaquetas, lo que provoca la aglutinación de las bacterias. Las MSCRAMM restantes, demasiado numerosas como para mencionarlas aquí (véase la bibliografía), son importantes para la colonización e invasión de *S. aureus* en infecciones importantes como la endocarditis.

La mayor parte de las cepas de *S. aureus* que tienen importancia clínica tiene cápsulas de polisacáridos, que inhiben la fagocitosis por medio de leucocitos polimorfonucleares a menos que existan anticuerpos específicos. Se han identificado cuando menos 11 serotipos, pero la mayor parte de las infecciones es producto de los tipos 5 y 8. Estos tipos de cápsulas son los sitios efectores de la vacuna conjugada. Las pruebas serológicas tienen una escasa utilidad para identificar estafilococos.

Enzimas y toxinas

Los estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y diseminarse ampliamente en los tejidos y por su producción de muchas sustancias extracelulares. Algunas de estas sustancias son enzimas; otras se consideran toxinas, aunque pueden funcionar como enzimas. Muchas de las toxinas están sujetas al control genético de los plásmidos; algunas pueden estar sujetas a control cromosómico y extracromosómico; en el caso de otras no está bien definido el mecanismo de control genético.

A. Catalasa

Los estafilococos producen catalasa, la cual convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba de catalasa permite distinguir entre los estafilococos, que son positivos, y los estreptococos, que son negativos.

B. Coagulasa y factor de aglutinación

S. aureus produce coagulasa, una proteína semejante a una enzima que coagula el plasma oxalado o citratado. La coagulasa se une a la protrombina; en conjunto pueden volverse enzimáticamente activas e iniciar la polimerización de fibrina. La coagulasa puede depositar fibrina en la superficie de los estafilococos, lo que tal vez altere su ingestión por las células fagocíticas o su destrucción en el interior de tales células. La producción de coagulasa se considera sinónimo del potencial patógeno invasor.

El **factor aglutinante** está confinado por una pared celular y es otro ejemplo de un MSCRAMM (véase antes) que se encarga de que los microorganismos se adhieran al fibrinógeno y la fibrina. Cuando se mezcla con el plasma, *S. aureus* forma

grumos. El factor de aglutinación es distinto a la coagulasa. Puesto que el factor de aglutinación desencadena una respuesta inmunógena potente en el hospedador, ha sido el centro de esfuerzos para desarrollar una vacuna. Sin embargo, hasta la fecha no existen vacunas para el ser humano contra este factor.

C. Otras enzimas

Otras enzimas producidas por estafilococos incluyen una hialuronidasa, o factor de propagación; una estafilocinasa que produce fibrinólisis pero que tiene una acción mucho más lenta que la estreptocinasa, proteinasas, lipasas y lactamasa β.

D. Hemolisinas

S. aureus tiene cuatro hemolisinas que están reguladas por *agr* (véase Regulación de los determinantes de virulencia). La α hemolisina es una proteína heterogénea que actúa sobre un gran espectro de membranas de células eucariotas. La toxina β degrada esfingomielina y, por lo tanto, es tóxica para muchas clases de células, incluidos los eritrocitos humanos. La toxina δ es heterogénea y se disocia en subunidades en detergentes no iónicos. Destruye membranas biológicas y participa en las enfermedades diarreicas por *S. aureus.* La hemolisina γ es una leucocidina que lisa leucocitos y está formada por dos proteínas llamadas S y F. La hemolisina γ actúa de manera recíproca con dos proteínas que comprenden la leucocidina Panton-Valentine (PVL, véase más adelante) para formar seis toxinas potenciales de dos componentes. Las seis toxinas proteínicas pueden lisar de manera eficiente a los leucocitos al causar la formación de poros en las membranas celulares que incrementan la permeabilidad a los cationes. Esto desencadena la liberación masiva de mediadores inflamatorios como IL-8, leucotrienos e histamina que intervienen en la necrosis y la inflamación grave.

E. Leucocidina de Panton-Valentine

Esta toxina de *S. aureus* tiene dos componentes y, a diferencia de la hemolisina codificada en forma cromosómica antes mencionada, la PVL se codifica en un fago móvil. Puede aniquilar leucocitos de seres humanos y conejos. Los dos componentes designados como S y F tienen una acción sinérgica sobre la membrana de los leucocitos como la descrita antes para la toxina γ. Esta toxina es un factor importante de virulencia en las infecciones por CA-MRSA.

F. Toxinas exfoliativas

Estas toxinas epidermolíticas de *S. aureus* son dos proteínas distintas que tienen el mismo peso molecular. La toxina A exfoliativa es codificada por *eta* situado en un fago y es termoestable (resiste la ebullición durante 20 min). La toxina B exfoliativa es gobernada por plásmidos y termolábil. Estas toxinas epidermolíticas producen la descamación generalizada de la epidermólisis estafilocócica aguda al disolver la matriz de mucopolisacárido de la epidermis. Las toxinas son **superantígenos** (capítulo 8).

G. Toxina del síndrome de choque tóxico

La mayor parte de las cepas de *S. aureus* que se aíslan en pacientes con el síndrome de choque tóxico produce una toxina denominada **toxina-1 del síndrome del choque tóxico** (TSST-1, *toxic shock syndrome toxin-1*), que es la misma que la enterotoxina F. La TSST-1 es el **superantígeno** prototipo (capítulo 9). La TSST-1 se une a moléculas de clase de histocompatibilidad mayor (MHC, *major histocompatibility*) clase II, lo que ocasiona la estimulación de linfocitos T, que favorece las manifestaciones diversas del síndrome de choque tóxico. La toxina produce fiebre, choque y lesión de órganos múltiples, lo que comprende un exantema descamativo. El gen de la TSST-1 se detecta en casi 20% de las cepas de *S. aureus,* incluido MRSA.

H. Enterotoxinas

Hay 15 enterotoxinas (A-E, G-P) que, de manera similar a TSST-1, son superantígenos. Cerca de 50% de las cepas de *S. aureus* puede producir una o más de ellas. Las enterotoxinas son termoestables y resistentes a la acción de las enzimas intestinales. Las enterotoxinas, que son causas importantes de intoxicación alimentaria, se producen cuando *S. aureus* se desarrolla en alimentos que contienen hidratos de carbono y proteínas. La ingestión de 25 μg de enterotoxina B produce vómito y diarrea (el efecto vomitivo de la enterotoxina probablemente sea resultado de la estimulación del sistema nervioso central (centro del vómito) después de que la toxina actúa en los receptores neurales del intestino.

Las toxinas exfoliativas, TSST-1 y los genes de la enterotoxina se encuentran en un elemento cromosómico denominado *isla de patogenicidad*. Interactúa con elementos genéticos complementarios (bacteriófagos) para producir las toxinas.

Patogenia

Los estafilococos, sobre todo *S. epidermidis,* son miembros de la microbiota normal de la piel humana y del aparato respiratorio y digestivo. De 20 a 50% de los seres humanos son portadores nasales de *S. aureus.* Los estafilococos también se detectan con regularidad en ropa, ropa de cama y otros fómites en ambientes humanos.

La capacidad patógena de una determinada cepa de *S. aureus* es el efecto combinado de factores extracelulares y toxinas junto con las propiedades invasivas de la cepa. En un extremo de la gama de la enfermedad está la intoxicación alimentaria estafilocócica, que se atribuye únicamente a la ingestión de la enterotoxina preformada; en el otro extremo están la bacteriemia estafilocócica y los abscesos diseminados en todos los órganos.

S. aureus patógeno invasivo produce coagulasa y tiende a producir un pigmento amarillo y a ser hemolítico. Los estafilococos no patógenos y no invasivos como *S. epidermidis* son coagulasa-negativos y tienden a ser no hemolíticos. Tales microorganismos pocas veces producen supuración, pero pueden infectar prótesis ortopédicas o cardiovasculares o ser causa de enfermedades en las personas inmunodeprimidas. Pueden ser resistentes al tratamiento debido a la formación de biopelículas. *S. lugdunensis* ha surgido como microorganismo virulento con un espectro de enfermedades similar al de *S. aureus*, con el que comparte ciertas características fenotípicas como factores de hemólisis y de aglutinación. *S. saprophyticus* suele ser no pigmentado, resistente a novobiocina y no hemolítico; produce infecciones de vías urinarias en mujeres jóvenes.

Regulación de los factores que determinan la virulencia

La expresión de los factores estafilocócicos determinantes de la virulencia es regulada por varios sistemas que son sensibles a las señales ambientales. El primero de estos sistemas consta de dos proteínas (sistemas de dos componentes), un ejemplo de ello es el regulador accesorio de genes (*agr*). Los otros dos sistemas consisten en proteínas de unión al DNA (p. ej., proteínas Sar) y RNA reguladores pequeños, respectivamente (p. ej., RNAIII), el último de los cuales ha adquirido más valor por tener funciones más importantes en la regulación de la expresión génica. La unión de sensores a ligandos extracelulares específicos o a un receptor tiene como resultado una secuencia de fosforilación que conduce hacia la unión del regulador con secuencias específicas de DNA. Esto finalmente provoca la activación de funciones reguladoras de la transcripción. *S. aureus* contiene varios sistemas reguladores de dos componentes bien descritos. Éstos comprenden *agr,* el mejor descrito, *sae RS, srrAB, arlSR* y *lytRS.* A continuación se describe en forma breve la manera como estos sistemas interactúan.

El regulador del gen accesorio (*agr)* es esencial en el control de percepción de quórum de la expresión génica. Controla la expresión preferente de adhesinas de superficie (proteína A, coagulasa y proteína fijadora de fibronectina), así como la producción de exoproteínas (toxinas como TSST-1), lo que depende de la fase del crecimiento (y, por lo tanto, de la densidad bacteriana).

A una baja densidad celular, el promotor P2 es inactivado y hay disminución de las transcripciones de proteína transmembrana, AgrB, precursor de péptido, AgrD, sensor transmembrana, AgrC y regulador de transcripción, AgrA. A medida que aumenta la densidad celular durante la fase de crecimiento estacionario, el sensor AgrC activa el regulador AgrA. AgrA es una proteína fijadora de DNA que activa al promotor P2 y al promotor P3. Este último inicia la transcripción de δ hemolisina y un efector denominado RNAIII, que disminuye la expresión de las adhesinas de superficie y activa la secreción de exoproteínas tanto a nivel de transcripción como de traducción. *Agr* también es controlado positivamente por una proteína fijadora de DNA denominada SarA (codificada por *sar*) y posiblemente por otros sistemas reguladores.

Se ha demostrado que por lo menos cuatro sistemas reguladores adicionales de dos componentes modifican la expresión del gen de virulencia. Estos se denominan *sae,* exoproteínas de *S. aureus; srrAB,* respuesta respiratoria estafilocócica; *arlS,* sensor de *locus* relacionado con autólisis y *lytRS. Sae* regula la expresión génica a nivel de transcripción y es esencial para producir toxina α, β hemolisinas y coagulasa. Su actividad es independiente a la de *agr. SsrAB* es importante para la regulación de la expresión del factor de virulencia que está influido por el oxígeno ambiental. El *locus arlSR* es importante para el control de la autólisis y disminuye la activación del *locus agr.* El *locus lytSR* también interviene en la autólisis. En la obra de Que y Moreillon pueden encontrarse análisis más detallados sobre la regulación de la patogenia.

Anatomía patológica

El prototipo de una lesión estafilocócica es el forúnculo u otro absceso circunscrito. Grupos de *S. aureus* establecidos en un folículo piloso producen necrosis del tejido (factor dermonecrótico). Se produce coagulasa y coagula la fibrina alrededor de la lesión y dentro de los linfáticos, lo que da por resultado la formación de una pared que limita el proceso y es reforzada por la acumulación de células inflamatorias y, más tarde, de tejido fibroso. En el centro de la lesión ocurre la licuefacción del tejido necrótico (intensificada por la hipersensibilidad tardía) y el absceso "apunta" hacia la dirección de menos resistencia. Después del drenaje del tejido necrótico del centro líquido, la cavidad se llena lentamente con tejido de granulación y después se cicatriza.

La supuración focal (absceso) es característica de la infección estafilocócica. Desde cualquier foco, los microorganismos pueden diseminarse por los linfáticos y la circulación sanguínea a otras partes del organismo. La supuración dentro de las venas, asociada a la trombosis, es una característica frecuente de tal diseminación. En la osteomielitis, el centro primario del crecimiento de *S. aureus* suele ser un vaso sanguíneo terminal de la metáfisis de un hueso largo, lo que desencadena necrosis del hueso y supuración crónica. *S. aureus* puede ser causa de neumonía, meningitis, empiema, endocarditis o septicemia con formación de pus en cualquier órgano. Los estafilococos de baja invasividad intervienen en muchas infecciones cutáneas (p. ej., acné, piodermia o impétigo). Los cocos anaerobios (*Peptostreptococcus*) participan en las infecciones anaerobias mixtas.

Los estafilococos también causan enfermedad mediante la elaboración de toxinas, sin una infección invasiva manifiesta. La exfoliación ampollosa, el síndrome de epidermólisis estafilocócica aguda, es causada por la producción de toxinas exfoliativas. El síndrome de choque tóxico se relaciona con TSST-1.

Manifestaciones clínicas

Una infección estafilocócica circunscrita aparece como un "grano", infección del folículo piloso o absceso. Suele haber una reacción inflamatoria intensa, circunscrita y dolorosa que supura del centro y que cicatriza con rapidez cuando se drena el pus. La pared de fibrina y las células alrededor del centro del absceso tienden a impedir la diseminación de los microorganismos y no debe destruirse con manipulaciones o traumatismo.

La infección por *S. aureus* también se debe a la contaminación directa de una herida, por ejemplo, infección de una herida posoperatoria por estafilococos o infección después de un traumatismo (osteomielitis crónica subsiguiente a una fractura abierta, meningitis consecutiva a una fractura del cráneo).

Si *S. aureus* se disemina y sobreviene bacteriemia, es posible que se presente endocarditis, osteomielitis hematógena aguda, meningitis o infección pulmonar. Los cuadros clínicos se parecen a los observados en otras infecciones del torrente sanguíneo. La localización secundaria en un órgano o sistema se acompaña de signos y síntomas de disfunción orgánica y supuración focal intensa.

La intoxicación alimentaria debida a enterotoxina estafilocócica se caracteriza por un periodo de incubación breve (1 a 8 h), náusea y vómito intensos, así como diarrea y una rápida convalecencia. No hay fiebre.

El síndrome de choque tóxico se manifiesta por el inicio repentino de fiebre alta, vómito, diarrea, mialgias, un exantema escarlatiniforme e hipotensión con insuficiencia cardiaca

y renal en los casos más graves. A menudo empieza en los primeros cinco días después de iniciada la menstruación en mujeres jóvenes que utilizan tampones de alta absorbencia, pero también se observa en niños y varones con infección en una herida por estafilococo. El síndrome puede experimentar recidiva. *S. aureus* relacionado con el síndrome de choque tóxico puede encontrarse en la vagina, en tampones, en heridas o en otras infecciones circunscritas, o en la faringe, pero prácticamente nunca en la circulación sanguínea.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Todas las siguientes constituyen muestras apropiadas para realizar pruebas, según la localización del proceso: pus en frotis superficial o aspirado de un absceso, sangre, aspirado endonasotraqueal, esputo expectorado o líquido raquídeo para cultivo. Con frecuencia se frota un hisopo en la porción anterior de las narinas para establecer si existe colonización nasal, ya sea por medio de cultivo o por pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, para fines epidemiológicos.

B. Frotis

Los estafilococos característicos aparecen como cocos grampositivos en racimos en frotis de pus o de esputo teñidos con la técnica de Gram. No es posible distinguir entre microorganismos no aureus (p. ej., *S. epidermidis*) y los patógenos *S. aureus* en los frotis.

C. Cultivo

Las muestras sembradas en placas de agar sangre originan colonias características en un término de 18 h a una temperatura de 37 °C, pero es posible que no haya hemólisis ni producción de pigmentos hasta varios días después y son óptimos a una temperatura ambiente. *S. aureus* fermenta manitol, pero ningún otro estafilococo lo hace. Las muestras contaminadas con una microbiota mixta pueden cultivarse en medios que contienen NaCl al 7.5%; la sal inhibe la mayor parte de la demás microbiota normal pero no a *S. aureus*. El agar de sal y manitol o los medios cromógenos disponibles en el comercio se utilizan para detectar portadores nasales de *S. aureus* y pacientes con fibrosis quística.

D. Prueba de la catalasa

Esta prueba se utiliza para detectar la presencia de enzimas citocromo oxidasa. Se coloca una gota de una solución de peróxido de hidrógeno al 3% en un portaobjetos y se aplica una pequeña cantidad del crecimiento bacteriano en la solución. La formación de burbujas (liberación de oxígeno) indica una prueba positiva.

E. Prueba de la coagulasa

El plasma de conejo (o humano) citratado diluido a 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o del cultivo proveniente de colonias crecidas en agar y se incuba a una temperatura de 37 °C. Se incluye como control un tubo de ensayo con plasma mezclado con caldo estéril. Si se forman coágulos en un lapso de 1 a 4 h, la prueba es positiva. Las pruebas de látex rápidas y los análisis de aglutinación son más oportunos y en algunos casos más sensibles para distinguir entre *S. aureus* y CoNS. Tales análisis detectan proteína A y factor de aglutinación, y algunos tienen anticuerpos monoclonares contra polisacáridos capsulares.

Los estafilococos productores de coagulasa se consideran patógenos para el ser humano; sin embargo, los estafilococos productores de coagulasa de los perros (*Staphylococcus intermedius*) y los delfines (*Staphylococcus delphini*) en algunas ocasiones producen enfermedad en el ser humano. Las infecciones de dispositivos protésicos pueden deberse a microorganismos del grupo de *S. epidermidis* coagulasa negativo.

F. Pruebas de sensibilidad

Los laboratorios clínicos adoptan métodos recomendados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) o el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) para la realización de pruebas de sensibilidad de estafilococos. La microdilución en caldo que utiliza métodos manuales o comerciales automatizados o la prueba de sensibilidad de difusión en disco deben realizarse en forma sistemática en cepas de estafilococos procedentes de infecciones de importancia clínica. La resistencia a la penicilina G puede pronosticarse por un resultado positivo de la prueba de β lactamasa; alrededor de 90% de *S. aureus* produce β lactamasa. La resistencia a la nafcilina (y oxacilina y meticilina) se presenta en alrededor de 65% de los cultivos de *S. aureus* y alrededor de 75% de los de *S. epidermidis*. La resistencia a nafcilina guarda relación con la presencia de *mecA* o *mecC*, los genes que codifican una proteína de unión a la penicilina (PBP2a, *penicillin-binding protein*) no afectados por tales fármacos. Estos genes pueden ser detectados con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otra prueba de amplificación de ácido nucleico. Varios sistemas autorizados por la FDA combinan la identificación y la detección del marcador de resistencia *mecA* directamente de hemocultivos positivos. Los análisis Verigene® (Nanosphere, Inc., Northbrook, IL) y BioFire FilmArray® BCID (BioFire Diagnostics, Inc., Salt Lake City, UT) son dos ejemplos de tales pruebas, pero muchos más se encuentran en desarrollo. También hay un análisis para el producto génico *mecA*, PBP2a, que se encuentra a la venta en el comercio y es mucho más rápido que la PCR para *mecA* o que la prueba de resistencia con los métodos fenotípicos tradicionales.

Cuando se utiliza la difusión en disco para detectar la resistencia a nafcilina, se recomienda la prueba de disco de cefoxitina para la prueba de *S. aureus*, *S. lugdunensis* y *S. saprophyticus*. Si la zona tiene un tamaño < 22 mm indica resistencia. En la microdilución en caldo se puede usar oxacilina o cefoxitina para detectar la resistencia a oxacilina. Si se prueba el último fármaco, entonces se añade NaCl al 2% al medio de cultivo y la prueba debe incubarse por 24 h completas a 35 °C.

Un microorganismo que es positivo para *mecA* o *mecC* o que fenotípicamente es resistente a nafcilina, oxacilina o meticilina también es resistente a todas las penicilinas de amplio espectro, fármacos carbapenémicos y cefalosporinas, con la excepción de ceftarolina, una nueva cefalosporina con actividad contra MRSA.

G. Pruebas serológicas y de tipificación

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de las infecciones por *S. aureus* tienen escasa utilidad práctica.

Los patrones de sensibilidad a antibióticos ayudan a detectar infecciones por *S. aureus* y a determinar si múltiples cepas de *S. epidermidis* provenientes de hemocultivos representan bacteriemia debida a la misma cepa, diseminada por un nido de infección.

Se han utilizado las técnicas de tipificación molecular para documentar la diseminación de clones de *S. aureus* que producen enfermedad epidémica. La electroforesis en gel de campo pulsado y la tipificación de secuencia multilocus son muy discriminatorias. La tipificación de *Spa* es menos específica, pero más fácil de realizar.

Tratamiento

La mayoría de las personas alberga estafilococos en la piel y en la nariz o en la faringe. Aun cuando la piel pueda liberarse de estafilococos (p. ej., en el eccema), la reinfección por las gotículas ocurrirá casi de inmediato. Puesto que los microorganismos patógenos suelen diseminarse de una lesión (p. ej., un forúnculo) a otra zona de la piel por los dedos y las prendas de vestir, es importante la antisepsia local meticulosa para controlar la forunculosis recidivante.

Las múltiples infecciones cutáneas importantes (acné, forunculosis) ocurren muy a menudo en los adolescentes. Hay infecciones cutáneas similares que se presentan en pacientes que reciben ciclos prolongados de corticoesteroides. En el acné, las lipasas de estafilococos y corinebacterias liberan ácidos grasos provenientes de lípidos y, por lo tanto, producen irritación del tejido. Se utilizan tetraciclinas para el tratamiento de largo plazo.

Los abscesos y otras lesiones purulentas cerradas se tratan mediante drenaje, el cual es esencial, y tratamiento antimicrobiano. Muchos antimicrobianos tienen algún efecto contra los estafilococos *in vitro*. Sin embargo, es difícil erradicar los estafilococos patógenos en personas infectadas, pues los microorganismos rápidamente desarrollan resistencia a muchos antimicrobianos y los fármacos no pueden ejercer su acción en la porción necrótica central de una lesión supurativa.

También puede ser difícil erradicar el estado portador nasal de *S. aureus*. Se ha informado de cierto éxito con la administración de mupirocina intranasal en individuos colonizados. En la literatura médica se encuentran éxitos demostrados de reducción de infecciones de heridas posquirúrgicas y prevención de bacteriemia con la administración de mupirocina a pacientes hospitalizados identificados durante cinco días, con o sin baño de clorhexidina, un antiséptico tópico.

La osteomielitis hematógena aguda responde bien a los antimicrobianos. En la osteomielitis crónica y recurrente, el drenaje quirúrgico y la resección del tejido óseo necrótico se acompaña de la administración a largo plazo de fármacos apropiados, pero es difícil erradicar los estafilococos infectantes. El oxígeno hiperbárico y la aplicación de colgajos miocutáneos vascularizados han ayudado a la cicatrización en la osteomielitis crónica.

La bacteriemia, la endocarditis, la neumonía y otras infecciones graves por *S. aureus* necesitan tratamiento intravenoso prolongado con una penicilina resistente a lactamasa β. La vancomicina suele reservarse para utilizarse contra los estafilococos resistentes a nafcilina. En los últimos años, el incremento de las MIC para la vancomicina en muchas cepas de MRSA tomadas de pacientes hospitalizados ha hecho que los médicos busquen otros tratamientos. Entre los fármacos alternativos para tratar la bacteriemia por MRSA y la endocarditis están los antimicrobianos más recientes como daptomicina, linezolida, quinupristina-dalfopristina (capítulo 28). Asimismo, estos compuestos pueden ser bactericidas y ofrecen alternativas cuando las alergias impiden el empleo de otros compuestos o cuando la infección del paciente parece estar cediendo en términos clínicos. Sin embargo, el empleo de estos fármacos debe analizarse con los infectólogos o los farmacólogos porque los efectos secundarios y la farmacocinética de cada uno son muy singulares. En fecha reciente se aprobó el uso de una cefalosporina nueva llamada ceftarolina, activa contra MRSA y otras bacterias tanto grampositivas como gramnegativas, para el tratamiento de las infecciones de piel y tejidos blandos, así como de la neumonía extrahospitalaria. Este fármaco todavía no está indicado para la bacteriemia. Si se encuentra que la infección se debe a *S. aureus* no productor de lactamasa β, la penicilina G es el fármaco de elección, pero pocas veces se detectan estas cepas de *S. aureus*.

Las infecciones por *S. epidermidis* son difíciles de curar en virtud de que ocurren en dispositivos protésicos donde las bacterias pueden aislarse en una biopelícula. *S. epidermidis* suele ser más resistente a los antimicrobianos que *S. aureus;* cerca de 75% de las cepas de *S. epidermidis* es resistente a nafcilina. La FDA autorizó en fecha reciente varios fármacos más novedosos para el tratamiento de piel e infecciones de la estructura cutánea que tienen actividad contra CoNS, MSSA y MRSA. Son dalbavancina, un lipoglucopéptido intravenoso de acción prolongada; fosfato de tedizolida, una oxazolidinona con presentaciones intravenosa y bucal, similar a la linezolida, y oritavancina, un glucopéptido semisintético.

Dada la frecuencia de cepas resistentes, las cepas de estafilococos importantes deben analizarse para determinar su sensibilidad a antimicrobianos y facilitar la selección de fármacos sistémicos. La resistencia a los fármacos del grupo de la eritromicina tiende a surgir con tanta rapidez que estos antimicrobianos no deben administrarse solos para tratar la infección crónica. La resistencia a los fármacos (penicilinas, tetraciclinas, aminoglucósidos, eritromicinas, etc.) determinada por plásmidos puede transmitirse entre los estafilococos mediante transducción y tal vez por conjugación.

Las cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina G provenientes de infecciones clínicas siempre producen penicilinasa. Constituyen más de 95% de las cepas aisladas de *S. aureus* en las comunidades de Estados Unidos. A menudo son sensibles a penicilinas resistentes a la lactamasa β, cefalosporinas o vancomicina. La resistencia a la nafcilina depende de la producción de lactamasa β y su incidencia clínica varía mucho en diferentes países y en diferentes épocas. Es posible que la presión de la selección de los antimicrobianos resistentes a la lactamasa β no sea el único factor determinante de la resistencia a estos fármacos. Por ejemplo, en Dinamarca, *S. aureus* resistente a nafcilina comprendía 40% de las cepas en 1970 y sólo 10% en 1980, sin cambios notables en el empleo de nafcilina o fármacos afines. En Estados Unidos, *S. aureus* resistente a nafcilina representaba

sólo 0.1% de las cepas en 1970, pero en la década de 1990, constituyó 20 a 30% de las cepas aisladas de infecciones en algunos hospitales. En la actualidad, alrededor de 60% de los pacientes bajo cuidado intensivo con infección por *S. aureus* intrahospitalaria en Estados Unidos es resistente a nafcilina. Por suerte, las cepas de *S. aureus* de sensibilidad intermedia a la vancomicina han sido relativamente infrecuentes y ha sido raro el aislamiento de cepas resistentes a la vancomicina.

Epidemiología y control

Los estafilococos son parásitos humanos ubicuos. Las principales fuentes de infección son lesiones humanas que los diseminan, fómites contaminados de tales lesiones y el aparato respiratorio y la piel del ser humano. La propagación de la infección por contacto ha asumido mayor importancia en hospitales, donde una gran proporción del personal y de los pacientes es portadora de estafilococos resistentes a antibióticos en la cavidad nasal o en la piel. Aunque la limpieza, la higiene y el tratamiento aséptico de las lesiones permiten controlar la propagación de los estafilococos de las lesiones, se dispone de pocos métodos para prevenir la diseminación generalizada de estafilococos de portadores. Los aerosoles (p. ej., glicoles) y la radiación ultravioleta del aire han tenido poco efecto.

En los hospitales, las zonas de máximo riesgo para las infecciones estafilocócicas graves son las salas de recién nacidos, las unidades de cuidados intensivos, los quirófanos y las salas de quimioterapia para cáncer. La introducción masiva de *S. aureus* patógeno "epidémico" en estas áreas puede provocar enfermedad clínica importante. El personal con lesiones activas por *S. aureus* y los portadores tienen que excluirse de estas áreas. En tales personas, la aplicación de antisépticos tópicos como mupirocina en los lugares de portación nasal o perineal puede reducir la diseminación de microorganismos peligrosos. La rifampicina junto con un segundo fármaco antiestafilocócico oral a veces ofrece supresión de largo plazo y posiblemente la cura del portador nasal; esta forma de tratamiento suele reservarse para los principales problemas de la portación de estafilococos, pues éstos rápidamente pueden desarrollar resistencia a la rifampicina.

Para disminuir la transmisión en el ámbito hospitalario, los pacientes con alto riesgo, como los que están internados en las unidades de cuidados intensivos y los que son transferidos desde unidades de atención crónica donde la prevalencia es alta, a menudo se valoran para determinar si tienen colonización en las narinas. Los enfermos con pruebas positivas de cultivo o PCR se someten a las precauciones de contacto para reducir al mínimo la propagación en las manos del personal de atención a la salud. El personal debe apegarse estrictamente a las políticas de control de infecciones, utilizar guantes y lavarse las manos antes y después del contacto con el paciente.

Hasta hace relativamente poco tiempo, *S. aureus* resistente a meticilina estaba confinado principalmente al ámbito hospitalario. La diseminación mundial de algunos clones distintivos de CA-MRSA, y ahora de LA-MRSA, ha producido un incremento de las infecciones de la piel y tejidos blandos y de la neumonía necrosante, sobre todo en pacientes más jóvenes sin factores de riesgo conocidos para la adquisición de MRSA. Estas cepas al parecer son más virulentas. Las cepas de CA-MRSA se caracterizan por la presencia de la leucocidina de Panton-Valentine (PVL) y la presencia del casete cromosómico estafilocócico *mec* tipo IV (véanse comentarios antes en "Características del crecimiento"), lo cual puede explicar la mayor sensibilidad a otros antimicrobianos en comparación con las cepas de MRSA relacionadas con la atención de la salud.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los estafilococos son microorganismos grampositivos y catalasa positivos que crecen en forma de racimos y constituyen un comensal frecuente de la piel y mucosas del ser humano y los animales.
- Los estafilococos patógenos, principalmente *S. aureus*, hemolizan la sangre, coagulan el plasma y producen una serie de enzimas extracelulares y toxinas que les confieren su virulencia.
- *S. aureus* posee sistemas reguladores complejos que responden a los estímulos ambientales para regular la expresión de sus diversos genes de virulencia codificados en islas de patogenicidad.
- *S. aureus* provoca gran variedad de enfermedades invasivas y toxígenas; el CoNS es menos virulento y muy a menudo acompaña a infecciones oportunistas (*S. epidermidis*) o síndromes específicos como infecciones por *S. saprophyticus* o infecciones de vías urinarias.
- La resistencia antimicrobiana entre los estafilococos es extensa y es codificada por una gran variedad de mecanismos como producción de lactamasa β, *mecA* cromosómico y otros factores de resistencia.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 54 años de edad presenta un absceso en el hombro derecho con una cepa de *Staphylococcus aureus* que es resistente a nafcilina. Se trató con un esquema de vancomicina intravenosa durante dos semanas y mejoró. Tres semanas después (semana 5) hubo recidiva de la infección y recibió vancomicina intravenosa durante dos semanas más y de nuevo mejoró. Cuatro semanas después (semana 11), la infección recurrió y de nuevo comenzó con vancomicina intravenosa. Las MIC de la vancomicina para las cepas de *S. aureus* fueron las siguientes: cepa inicial (día 1), 1 μg/ml; semana 5, 2 μg/ml; y semana 11, 8 μg/ml. La paciente no mejoró con el tercer ciclo de vancomicina y se administró otro tratamiento. El mecanismo que explica mejor la resistencia relativa de esta cepa de *S. aureus* a la vancomicina es:
   (A) Adquisición del gen *van* A de otro microorganismo
   (B) Transporte activo de la vancomicina fuera de la célula de *S. aureus*
   (C) Acción de la β lactamasa
   (D) Incremento de la síntesis de la pared celular y alteraciones de la estructura de la pared celular
   (E) Fosforilación e inactivación resultante de la vancomicina
2. Un niño de 11 años de edad presenta fiebre leve y dolor en la parte superior del brazo. La radiografía del brazo muestra una lesión lítica (disolución) en la parte superior del húmero con elevación del periostio sobre la lesión. El paciente se somete a una intervención quirúrgica en la cual se efectúa desbridamiento de la lesión (se reseca el hueso necrótico y se elimina el pus). El cultivo de la lesión revela cocos grampositivos. Una prueba muestra que el

microorganismo es un estafilococo y no un estreptococo. Con base en esta información, se sabe que el microorganismo es:

(A) Sensible a la nafcilina
(B) Positivo para β lactamasa
(C) Productor de proteína A
(D) Encapsulado
(E) Catalasa positivo

3. Un varón de 36 años de edad tiene un absceso por una cepa de *S. aureus* que es β lactamasa positiva. Esto indica que el microorganismo es resistente a cuál de los siguientes antibióticos:

(A) Penicilina G, ampicilina y piperacilina
(B) Trimetoprim-sulfametoxazol
(C) Eritromicina, claritromicina y azitromicina
(D) Vancomicina
(E) Cefazolina y ceftriaxona

4. Hace siete días, una estudiante de medicina de 27 años de edad regresó de Centroamérica, donde había pasado el verano trabajando en una clínica para indígenas. Hace cuatro días, la paciente presentó un exantema eritematoso parecido a una quemadura solar. También había tenido cefaleas, mialgias y cólicos abdominales con diarrea. Su presión arterial era 70/40 mm Hg. La exploración ginecológica muestra que se encuentra cursando su periodo menstrual y tiene colocado un tampón; por lo demás, la exploración ginecológica es normal. Sus pruebas de función renal (nitrógeno ureico sanguíneo y creatinina) son anormales, lo que indica insuficiencia renal leve. Un frotis sanguíneo para el paludismo es negativo. ¿Es posible que su enfermedad sea causada por cuál de los siguientes?

(A) Una toxina que produce concentraciones muy altas de monofosfato de adenosina cíclico intracelular (cAMP)
(B) Una toxina que degrada esfingomielina
(C) Una toxina que se une al complejo de histocompatibilidad mayor clase II (MHC) de una célula presentadora de antígeno y la región Vβ de un linfocito T
(D) Una toxina de dos componentes que forma poros en los leucocitos e incrementa la permeabilidad a los cationes
(E) Una toxina que bloquea el factor de elongación 2 (EF2)

5. Durante un periodo de tres semanas, un total de cinco pacientes en la sala de recién nacidos del hospital presentó infecciones por *Staphylococcus aureus* y bacteriemia por este microorganismo. Todas las cepas aisladas tenían las mismas características morfológicas de la colonia y propiedades hemolíticas, así como patrones de sensibilidad a antimicrobianos idénticos, lo que indicaba que eran las mismas. (Los métodos moleculares que se utilizaron después demostraron que las cepas eran idénticas). ¿Qué es lo que debe hacerse ahora?

(A) Tratamiento profiláctico de todos los recién nacidos con vancomicina intravenosa
(B) Aislamiento protector de todos los recién nacidos
(C) Cierre de la sala de recién nacidos y envío de las mujeres embarazadas a otro hospital
(D) Contratar a nuevo personal para la sala de recién nacidos del hospital
(E) Realizar cultivo con agar sal y manitol de la parte anterior de las narinas de los médicos, las enfermeras y otro personal que haya atendido a los lactantes infectados

6. Las toxinas exfoliativas, TSST-1, y las enterotoxinas son todas superantígenos. Los genes para estas toxinas:

(A) Están presentes en todas las cepas de *Staphylococcus aureus*
(B) Tienen una distribución amplia en el cromosoma estafilocócico
(C) Están presentes en el cromosoma estafilocócico (toxinas TSST-1 y exfoliativa) y en los plásmidos (enterotoxinas)
(D) Están presentes en el cromosoma estafilocócico en una isla de patogenicidad
(E) Están en los plásmidos

7. Un paciente de 16 años de edad sometido a un trasplante de médula ósea tiene un catéter central que fue colocado hace dos semanas. Asimismo, tiene una sonda en las vías urinarias, la cual fue colocada hace dos semanas también. Presenta fiebre cuando sus cifras de leucocitos son muy bajas y antes de implantar el injerto. Se llevan a cabo tres hemocultivos y todos demuestran *Staphylococcus epidermidis.* ¿Cuál de las siguientes declaraciones es correcta?

(A) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente son sensibles a la penicilina G
(B) *Staphylococcus epidermidis* posiblemente proviene de la superficie de la sonda en las vías urinarias
(C) *Staphylococcus epidermidis* posiblemente es resistente a vancomicina
(D) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente provienen de una fuente cutánea
(E) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente se hallan en una biopelícula en la superficie del catéter venoso central

8. Un varón de 65 años de edad presenta un absceso en la parte posterior del cuello. En el cultivo se detecta *Staphylococcus aureus.* Se evalúa la cepa y es positiva para el gen *mec*A, lo cual significa que:

(A) La cepa es sensible a vancomicina
(B) La cepa es resistente a vancomicina
(C) La cepa es sensible a nafcilina
(D) La cepa es resistente a nafcilina
(E) La cepa es sensible a clindamicina
(F) La cepa es resistente a clindamicina

9. La resistencia a antimicrobianos se ha convertido en un problema importante. ¿Cuál de los siguientes constituye un problema principal en todo el mundo?

(A) La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la nafcilina
(B) La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina
(C) La resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a la penicilina
(D) La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la vancomicina
(E) La resistencia de *Escherichia coli* a la tobramicina

10. Un grupo de seis niños menores de ocho años de edad vive en un país semitropical. Todos los niños tienen varias lesiones cutáneas exudativas y encostradas de impétigo (piodermia). Las lesiones predominan en los brazos y la cara. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa probable de las lesiones?

(A) *Escherichia coli*
(B) *Chlamydia trachomatis*
(C) *Staphylococcus aureus*
(D) *Streptococcus pneumoniae*
(E) *Bacillus anthracis*

11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la participación de la proteína A en la patogenia de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* es correcta?

(A) Es la causa del exantema en el síndrome de choque tóxico
(B) Convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno
(C) Es una enterotoxina potente
(D) Es la causa directa de la lisis de neutrófilos
(E) Es una proteína de la superficie bacteriana que se une a la porción Fc de la IgG1

12. ¿Cuál de los siguientes microorganismos estafilocócicos produce coagulasa y se ha implicado en las infecciones que se presentan tras una mordedura de perro?

(A) *Staphylococcus intermedius*

(B) *Staphylococcus epidermidis*
(C) *Staphylococcus saprophyticus*
(D) *Staphylococcus hominis*
(E) *Staphylococcus hemolyticus*

13. Todas las siguientes aseveraciones con relación a la leucocidina de Panton-Valentine son correctas, *excepto:*
    (A) Es una toxina de dos componentes
    (B) Suele ser producida por cepas extrahospitalarias de MRSA
    (C) Es un factor de virulencia importante
    (D) Es idéntica a una de las enterotoxinas estafilocócicas
    (E) Forma poros en las membranas de los leucocitos
14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones describe mejor la función del regulador del gen accesorio en *Staphylococcus aureus*?
    (A) Regula la producción de β hemolisinas
    (B) Está sujeto a la influencia del oxígeno ambiental
    (C) Controla la expresión preferente de las adhesinas de superficie
    (D) Es importante en el control de la autólisis
15. Todas las siguientes son estrategias importantes para el control de la infección para contener la diseminación de MRSA en los hospitales, *excepto:*
    (A) Higiene meticulosa de las manos
    (B) Vigilancia sistemática de la colonización nasal en personas con alto riesgo
    (C) Aislamiento de contacto para los pacientes que están colonizados o infectados por MRSA
    (D) Profilaxis antimicrobiana sistemática en todos los pacientes hospitalizados por más de 48 h
    (E) Tratamiento aséptico de las lesiones cutáneas

Respuestas

1. D	5. E	9. D	13. D
2. E	6. D	10. C	14. C
3. A	7. E	11. E	15. D
4. C	8. D	12. A	

BIBLIOGRAFÍA

Becker K, Ballhausen B, Kock R, Kriegeskorte A: Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: the “mec alphabet” with specific consideration of mec, C a mec homolog associated with *S. aureus* lineages. *Int J Med Microbiol* 2014;304:794.

Que YA, Moreillon P: Chapter 196, *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Churchill Livingstone, Elsevier, 2015.

Winn WC, Allen SD, Janda WM, *et al.* (editors): Gram-positive cocci, Part I: staphylococci and related gram-positive cocci. En: Winn WC Jr, Allen SD, Janda WM, *et al.* (editors). *Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6a. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2006, p. 623.

CAPÍTULO

14

Estreptococos, enterococos y géneros relacionados

Los estreptococos, enterococos y microorganismos relacionados son bacterias esféricas que forman los característicos pares o cadenas cuando crecen. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Algunos son miembros de las microbiotas normales del ser humano, en tanto que otros ocasionan graves enfermedades atribuibles a los efectos directos de la infección causada por ellos, o en otros casos, a la respuesta inmunitaria contra ellos. Los estreptococos elaboran sustancias extracelulares y enzimas.

Los estreptococos constituyen un gran grupo heterogéneo de bacterias y no basta un solo sistema de clasificación para abarcarlos. Sin embargo, conocer su taxonomía es esencial para comprender su importancia en medicina.

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

La clasificación de los estreptococos en grandes categorías se ha basado en una serie de observaciones acumuladas durante muchos años: 1) morfología de las colonias y reacciones hemolíticas en agar sangre; 2) especificidad serológica de la sustancia de la pared celular específica de grupo (antígenos de Lancefield) y otros antígenos parietales o capsulares; 3) reacciones bioquímicas y resistencia a factores físicos y químicos y 4) características ecológicas. En fecha reciente, la genética molecular reemplazó métodos fenotípicos en la asignación taxonómica de tales microorganismos. En el cuadro 14-1 se muestra resumida la clasificación de estreptococos de importancia médica.

A. Hemólisis

Muchos estreptococos pueden producir hemólisis de los eritrocitos *in vitro* en grados variables. La destrucción completa de los eritrocitos con el aclaramiento de la sangre alrededor del crecimiento bacteriano se denomina **hemólisis β**. La lisis incompleta de los eritrocitos con reducción de hemoglobina y la formación de pigmento verde se llama **hemólisis α**. Otros estreptococos no son hemolíticos (a veces se les denomina hemólisis γ [gamma]).

En el cuadro 14-1 se muestran los patrones de hemólisis de los estreptococos que tienen importancia médica para el ser humano. Se utiliza la clasificación de los patrones hemolíticos principalmente con los estreptococos y no con otras bacterias que producen enfermedad y que suelen producir diversas hemolisinas.

B. Sustancia específica de grupo (clasificación de Lancefield)

Este hidrato de carbono está contenido en la pared celular de muchos estreptococos y constituye la base del agrupamiento serológico en los **grupos de Lancefield A** a **H** y **K** a **U**. La especificidad serológica del hidrato de carbono específico de grupo está determinada por un aminoglúcido. En caso de estreptococos del grupo A, ésta es la ramnosa-*N*-acetilglucosamina; en el caso del grupo B, es un polisacárido de ramnosa-glucosamina; para el grupo C, es la ramnosa-*N*-acetilgalactosamina; para el grupo D, es el ácido teicoico de glicerol que contiene D-alanina y glucosa; y para el grupo F, es una glucopiranosil-*N*-acetilgalactosamina.

Se preparan extractos de antígeno específico para el agrupamiento de los estreptococos por diversos métodos: extracción del cultivo centrifugado tratado con ácido clorhídrico caliente, ácido nitroso o formamida; mediante lisis enzimática de células estreptocócicas (p. ej., con pepsina o tripsina); o mediante autoclave de suspensiones celulares. Estos extractos contienen el carbohidrato de la sustancia específica de grupo que produce antisueros específicos para reacciones de la precipitina; ello permite clasificar a los estreptococos en grupos A a H y K a U. La tipificación por lo regular se hace sólo en los grupos A, B, C, F y G (cuadro 14-1), que causan enfermedad en seres humanos, y para los cuales se cuenta con reactivos que permiten tipificarlos por medio de reacciones sencillas de aglutinación o colorimétricas.

C. Polisacáridos capsulares

La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares permite clasificar *S. pneumoniae* en más de 90 tipos y tipificar los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*).

D. Reacciones bioquímicas

Las pruebas bioquímicas comprenden reacciones de fermentación de carbohidratos, pruebas para determinar la presencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a determinados compuestos químicos. Las pruebas bioquímicas sirven muy a menudo para clasificar estreptococos después del desarrollo de la colonia y de observar las características hemolíticas. Se utilizan las pruebas bioquímicas para especies que por lo general no reaccionan con las preparaciones de anticuerpos que suelen usarse para las sustancias específicas, de los grupos A, B, C, F y G. Por ejemplo, los estreptococos viridans son α hemolíticos o no hemolíticos y no reaccionan con los anticuerpos que suelen utilizarse para la clasificación de Lancefield. Para determinar las especies de estreptococos viridans se necesita una serie de pruebas bioquímicas. Véase el cuadro 14-1. Sin embargo, las reacciones bioquímicas son laboriosas y generan resultados poco confiables, por lo que los laboratorios que practican técnicas moleculares, como la secuenciación

apter 14_Carroll_4R.indd 213 14/04/16

CUADRO 14-1 Características de estreptococos de importancia médica

Nombre	Sustancia específica de grupo[a]	Hemólisis[b]	Hábitat	Criterios de laboratorio importantes	Enfermedades comunes e importantes
Estreptococus piógenos					
Streptococcus pyogenes	A	β	Garganta, piel	Colonias grandes (> 0.5 mm), positivos a prueba de PYR[c], inhibidos por bacitracina	Faringitis, impétigo, infecciones profundas de tejidos blandos; bacteriemia; fiebre reumática, glomerulonefritis, choque tóxico
Streptococcus agalactiae	B	β	Vías genitourinarias, tubo digestivo bajo	Hidrólisis de hipurato, positivo a factor de CAMP[d]	Sepsis neonatal y meningitis; bacteriemia, UTI[e], meningitis en adultos
Streptococcus dysgalactiae subespecie *equisimilis*; otros	C, G	β (infecciones en seres humanos), α, ninguno	Garganta	Colonias grandes (> 0.5 mm)	Faringitis, infecciones piógenas parecidas a las de estreptococos del grupo A
Estreptococos viridans					
Grupo de *Streptococcus bovis*	D	Ninguno	Colon, árbol biliar	Crecimiento en presencia de bilis, hidrólisis de esculina, ausencia de crecimiento en NaCl al 6.5%, degradación de almidón	Endocarditis, aislado de sangre común en cáncer de colon, enfermedad biliar
Grupo de *Streptococcus anginosus* (*S. anginosus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*)	F (A, C, G) y no tipificable	α, β, ninguno	Faringe, colon, aparato genitourinario	Variantes de colonias pequeñas (< 0.5 mm) de especies hemolíticas β; los del grupo A son resistentes a bacitracina y negativas a PYR; tipos de fermentación de carbohidrato; positivos a arginina, esculina, VP[g]	Infecciones piógenas, incluidos abscesos cerebral, hepático y pulmonar
Grupo Mutans	Por lo general no tipificado	α, ninguno	Actividad en la boca	Tipos de fermentación de carbohidrato; positivo a esculina, VP	Caries (*S. mutans*), endocarditis; abscesos (con muchas otras especies bacterianas
Grupo mitis-sanguinis					
Streptococcus pneumoniae	Ninguno[o]	α	Nasofaringe	Susceptible a optoquina; colonias solubles en bilis; positivos a reacción de tumefacción capsular	Neumonía, meningitis, bacteriemia, otitis media, sinusitis
Streptococcus mitis	Ninguna	α, ninguno	Cavidad oral	Negativo a VP[g]; tipos de fermentación de carbohidratos	Endocarditis; bacteriemia, septicemia en pacientes inmunodeprimidos; resistencia alta a penicilina
Grupo de salivavirus	Ninguno	α, ninguno	Cavidad oral	Positivo a VP, patrones de fermentación de carbohidrato	Bacteriemia, endocarditis, meningitis

[a] Clasificación de Lancefield.

[b] Hemólisis observada en agar sangre de carnero al 5% después de incubar toda la noche.

[c] Hidrólisis de L-pirrolidonil-β-naftilamida (PYR).

[d] CAMP, Christie, Atkins, Munch-Peterson.

[e] UTI, infecciones de vías genitourinarias.

[f] Incluye las especies en ser humano: *Streptococcus gallolyticus* subespecie *gallolyticus*; *Streptococcus gallolyticus* subespecie *macedonicus*; *Streptococcus gallolyticus* subespecie *pasteurianus*; *Streptococcus infantarius* subespecie *infantarius*.

[g] VP, Voges Proskauer; todos los estreptococos del grupo viridans son positivos a VP, excepto el grupo mitis.

GI, gastrointestinal.

de genes, o que han puesto en práctica la espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectroscopy*), sustituyen los métodos fenotípicos cuando se necesita identificar estreptococos viridans.

ESTREPTOCOCOS DE INTERÉS ESPECIAL EN MEDICINA

Los siguientes estreptococos y enterococos tienen importancia especial en medicina.

STREPTOCOCCUS PYOGENES

La mayor parte de los estreptococos que contienen el antígeno del grupo A es *S. pyogenes*. Es un prototipo de microorganismo patógeno humano. En este caso sirve para ilustrar las características generales de los estreptococos y las características específicas de la especie. *S. pyogenes* es el principal microorganismo patógeno humano que produce invasión local o sistémica y trastornos inmunitarios posestreptocócicos. *S. pyogenes* suele producir zonas grandes (de 1 cm de diámetro) de hemólisis β alrededor de las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro. Son PYR positivos (hidrólisis de L-pirrolidonil-β-naftilamida) y suelen ser susceptibles a la bacitracina.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los cocos son esféricos u ovoides y están dispuestos en cadenas (figura 14-1). Los cocos se dividen en un plano perpendicular al eje longitudinal de la cadena. Los miembros de la cadena a menudo tienen un aspecto diplocócico llamativo y esporádicamente se observan formas semejantes a un bastón. Las longitudes de las cadenas son muy variables y están condicionadas por factores ambientales. Los estreptococos son grampositivos; sin embargo, a medida que envejece un cultivo y mueren las bacterias, pierden su grampositividad y pueden tener un aspecto gramnegativo; en el caso de algunos estreptococos, esto puede ocurrir después de la incubación durante la noche.

Casi todas las cepas del grupo A (cuadro 14-1) producen cápsulas que constan de ácido hialurónico. Las cápsulas son más notables en los cultivos muy recientes. Impiden la fagocitosis. La cápsula de ácido hialurónico interviene más activamente en la virulencia de lo que suele apreciarse, y junto con la proteína M, se postula que fue un factor importante en el resurgimiento de la fiebre reumática (RF, *rheumatic fever*) en Estados Unidos que se presentó en las décadas de 1980 y 1990. La cápsula se une a la proteína fijadora de ácido hialurónico, CD44, presente en las células epiteliales humanas. La fijación produce alteración de las uniones intercelulares y permite a los microorganismos mantenerse en el medio extracelular a medida que penetran en el epitelio (Stollerman y Dale, 2008). Las cápsulas de otros estreptococos (p. ej., *S. agalactiae* y *S. pneumoniae*) son diferentes. La pared celular de *S. pyogenes* contiene proteínas (antígenos M, T, R), hidratos de carbono

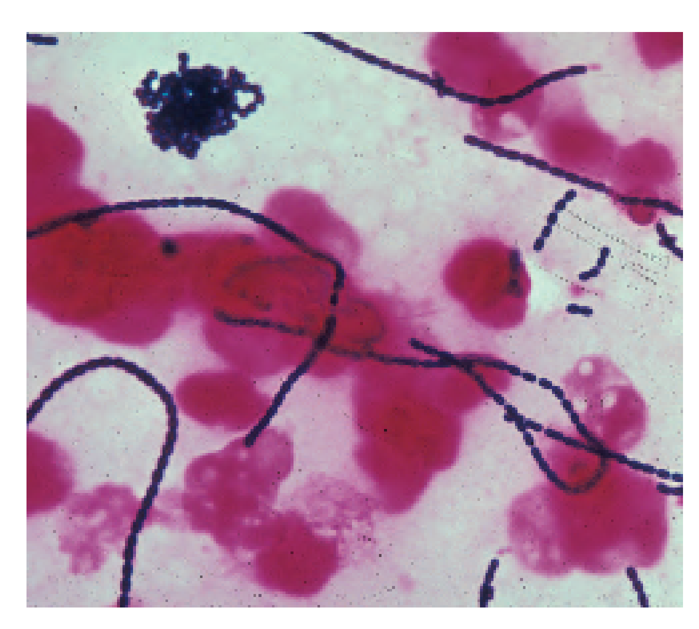


FIGURA 14-1 Desarrollo de estreptococos en hemocultivo que muestran cadenas de cocos grampositivos. Aumento del original × 1 000.

(específicos de grupo) y peptidoglucanos. Las fimbrias de aspecto filiforme se proyectan a través de la cápsula de estreptococos del grupo A. Las fimbrias constan en parte de proteína M y están recubiertas con **ácido lipoteicoico**. Este último es importante en la unión de los estreptococos con las células epiteliales.

B. Cultivo

La mayor parte de los estreptococos se desarrolla en medios sólidos como colonias discoides, por lo general de 1 a 2 mm de diámetro. *S. pyogenes* es β hemolítico (figura 14-2). Otras especies tienen características hemolíticas variables (cuadro 14-1).

C. Características de crecimiento

La energía se obtiene principalmente de la utilización de glucosa con ácido láctico como producto final. La proliferación de los estreptococos tiende a ser deficiente en medios sólidos o en caldo, a menos que estén enriquecidos con sangre o líquidos hísticos. Las necesidades nutritivas varían mucho entre las diferentes especies. Los microorganismos patógenos humanos son más exigentes y necesitan diversos factores de multiplicación. La multiplicación y la hemólisis se facilitan con la incubación en CO_2 al 10%. La mayor parte de los estreptococos hemolíticos patógenos se desarrolla mejor a una temperatura de 37 °C. Casi todos los estreptococos son anaerobios facultativos y crecen en condiciones aerobias y anaerobias.

D. Variación

Las variantes de la misma cepa de estreptococo pueden mostrar diferentes formas de colonias. Esto es muy notable en las cepas de *S. pyogenes*, lo que origina colonias mate o brillantes. Las colonias mate constan de microorganismos que producen mucha proteína M y por lo general son virulentos. Los microorganismos *S. pyogenes* en las colonias brillantes tienden a producir escasa proteína M y casi nunca son virulentos.

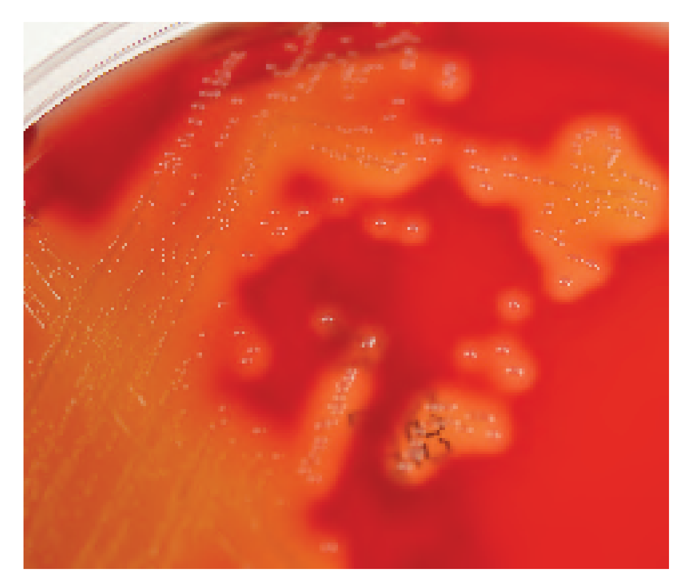


FIGURA 14-2 Estreptococos β hemolíticos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) después del cultivo durante la noche en una placa de 10 cm con agar sangre de carnero al 5%. Las colonias blancas pequeñas (0.5 a 1 mm de diámetro) están rodeadas por zonas difusas de hemólisis β de 7 a 10 mm de diámetro. (Cortesía de H. Reyes.)

Estructura antigénica

A. Proteína M

Esta sustancia es un factor importante de virulencia de *S. pyogenes*. La proteína M es una estructura filamentosa anclada en la membrana celular que penetra y se proyecta desde la pared celular estreptocócica. Cuando está presente esta proteína, los estreptococos son virulentos, y en ausencia de anticuerpos específicos de tipo M, pueden resistir la fagocitosis por polimorfonucleares, al inhibir la activación de la vía alterna del complemento. Las cepas de *S. pyogenes* que no poseen la proteína M no son virulentas. La inmunidad a la infección por estreptococos del grupo A depende de la presencia de anticuerpos específicos contra la proteína M. Hay más de 150 tipos de proteína M, por lo que una persona puede mostrar infecciones repetitivas por *S. pyogenes* de diferentes tipos M. Los estreptococos grupos C y G tienen genes que son homólogos a los de la proteína M del grupo A, y en los estreptococos de los dos grupos mencionados se han detectado proteínas M similares a las del grupo A.

La molécula de la proteína M tiene una estructura enrollada en forma de bastón que separa dominios funcionales. La estructura permite un gran número de cambios de secuencias al tiempo que mantiene la función y los inmunodeterminantes de proteína M, por lo tanto, pueden cambiar con facilidad. Hay dos clases estructurales importantes de proteína M, las clases I y II.

Al parecer la proteína M y tal vez otros antígenos de la pared celular estreptocócica tienen una participación importante en la patogenia de la fiebre reumática. Las membranas purificadas de la pared celular estreptocócica inducen anticuerpos que reaccionan con el sarcolema cardiaco del ser humano; no se han aclarado las características de los antígenos de reacción cruzada. Un componente de la pared celular de algunos tipos selectos de proteína M induce anticuerpos que reaccionan con el tejido muscular cardiaco. Los dominios antigénicos conservados en la proteína M clase I reaccionan en forma cruzada con el músculo cardiaco humano y la proteína M clase I puede ser un determinante de virulencia para la fiebre reumática.

Toxinas y enzimas

Más de 20 productos extracelulares que son antigénicos son elaborados por *S. pyogenes*, incluidos los siguientes.

A. Estreptocinasa (fibrinolisina)

La estreptocinasa es producida por muchas cepas de estreptococos β hemolíticos del grupo A. Transforma el plasminógeno del plasma humano en plasmina, enzima proteolítica activa que digiere la fibrina y otras proteínas y permite que las bacterias salgan de los coágulos sanguíneos; dicho proceso de digestión puede ser interferido por inhibidores séricos inespecíficos y por la antiestreptocinasa, un anticuerpo específico. La estreptocinasa se ha administrado por vía intravenosa para tratar embolia pulmonar, trombosis de arterias coronarias y trombosis venosas.

B. Desoxirribonucleasas

Las desoxirribonucleasas A, B, C y D de estreptococos degradan DNA (DNasas) y en forma similar a lo que ocurre con la estreptocinasa, facilitan la propagación de los estreptococos en tejidos al licuar el pus. La actividad enzimática se mide por la disminución de la viscosidad de soluciones conocidas de DNA. La viscosidad de los exudados purulentos depende en gran medida de la desoxirribonucleoproteína. En el "desbridamiento enzimático" se emplean mezclas de estreptocinasa y DNasas. Ayudan a la licuefacción de exudados y facilitan la eliminación de pus y tejido necrótico; por consiguiente, los fármacos antimicrobianos penetran mejor y las superficies infectadas se restablecen con mayor rapidez. Se forma un anticuerpo contra DNAasa después de infecciones estreptocócicas (límite normal, 100 unidades), sobre todo después de infecciones cutáneas.

C. Hialuronidasa

La hialuronidasa degrada ácido hialurónico, un componente importante de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo. En consecuencia, la hialuronidasa ayuda a diseminar los microorganismos infectantes (factor de diseminación). Las hialuronidasas son antigénicas y específicas para cada fuente bacteriana o hística. Después de la infección por microorganismos productores de hialuronidasa, aparecen en el suero anticuerpos específicos.

D. Exotoxinas pirógenas (toxina eritrógena)

S. pyogenes elabora exotoxinas pirógenas. Se conocen tres **exotoxinas pirógenas estreptocócicas (Spe, *streptococcal pyrogenic exotoxins*)**, antigénicamente diferentes **A**, **B y C**. La más estudiada ha sido SpeA. Es generada por los estreptococos del grupo A que portan un fago lisógeno. Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas se han relacionado con el **síndrome de choque tóxico estreptocócico** y la **fiebre escarlatina**. La mayor parte de las cepas de estreptococos del grupo A aisladas de pacientes

con síndrome de choque tóxico estreptocócico produce Spe A o tiene el gen que la codifica; en cambio, sólo alrededor de 15% de los estreptococos del grupo A aislados de otros pacientes tiene el gen. La Spe C, también codificada por un fago, puede contribuir al síndrome. Spe B, una proteasa potente, interfiere en la fagocitosis. El grupo de estreptococos A asociados al síndrome de choque tóxico está constituido principalmente por los tipos 1 y 3 de la proteína M.

Las exotoxinas pirógenas funcionan como superantígenos, que estimulan los linfocitos T al unirse al complejo de histocompatibilidad mayor de clase II en la región V_β del receptor del linfocito T. Los linfocitos T activados liberan citocinas que median el choque y la lesión de los tejidos. Los mecanismos de acción al parecer son similares a los que se presentan por la toxina-1 del síndrome tóxico estafilocócico y las enterotoxinas estafilocócicas.

E. Hemolisinas

S. pyogenes β hemolítico del grupo A elabora dos hemolisinas (estreptolisinas) que además de causar la lisis de las membranas de los eritrocitos, también dañan otros tipos celulares. La **estreptolisina O** es una proteína (peso molecular 60 000) que tiene actividad hemolítica en el estado reducido (grupos SH disponibles), pero rápidamente es inactivada en presencia de oxígeno. La estreptolisina O se encarga de una parte de la hemólisis que se observa cuando el crecimiento se presenta en cortes profundos dentro del medio en las placas de agar sangre. Se combina cuantitativamente con la **antiestreptolisina O (ASO)**, un anticuerpo que aparece en el ser humano después de la infección por cualquier estreptococo que produzca estreptolisina O. Este anticuerpo bloquea la hemólisis provocada por la estreptolisina O. Este fenómeno constituye la base de una prueba cuantitativa para el anticuerpo. Un título sérico de ASO que supere las 160 a 200 unidades se considera anormalmente alto e indica infección reciente por *S. pyogenes* o concentraciones de anticuerpo persistentemente altas a consecuencia de una respuesta inmunitaria excesiva ante una exposición previa en una persona hipersensible. La **estreptolisina S** es la enzima que produce las zonas hemolíticas alrededor de las colonias estreptocócicas que crecen en la superficie de las placas de agar sangre. Es elaborada en presencia de suero, de ahí el nombre de estreptolisina S. No es antigénica. Muchas cepas de *S. pyogenes* producen las dos hemolisinas; hasta 10% produce sólo una de ellas.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Diversos procesos patológicos distintos se relacionan con las infecciones por *S. pyogenes*. Las infecciones se pueden dividir en varias categorías.

A. Enfermedades atribuibles a la invasión por *S. pyogenes* y estreptococos β hemolíticos del grupo A

El sitio de entrada determina el cuadro clínico principal. Sin embargo, en cada caso hay una infección difusa que se propaga con rapidez y que afecta los tejidos y se extiende por los conductos linfáticos con sólo una supuración local mínima. Desde los linfáticos, la infección puede extenderse hacia la circulación sanguínea.

1. Erisipela Si el sitio de entrada es la piel, sobreviene erisipela. Las lesiones están abultadas y tienen un color rojo característico. Hay inflamación masiva endurecida con un margen de la infección muy bien demarcado que avanza con rapidez.

2. Celulitis La celulitis estreptocócica es una infección aguda de diseminación rápida de la piel y los tejidos subcutáneos. Se presenta tras la infección relacionada con traumatismos leves, quemaduras, heridas o incisiones quirúrgicas. Se presenta dolor, hipersensibilidad, edema y eritema. La celulitis se distingue de la erisipela por dos manifestaciones clínicas: en la celulitis, la lesión no está elevada y no está bien definida la línea entre el tejido afectado y el sano.

3. Fascitis necrosante (gangrena estreptocócica) Surge en forma extensa y con gran rapidez necrosis de la piel, los tejidos y las aponeurosis. Otras bacterias, además de *S. pyogenes*, también causan fascitis necrosante. Los estreptococos del grupo A que producen fascitis necrosante a veces también se han denominado *bacterias comedoras de carne*.

4. Fiebre puerperal Si los estreptococos entran en el útero después del parto, sobreviene fiebre puerperal, que es una septicemia que se origina en la herida infectada (endometritis).

5. Bacteriemia o septicemia La infección de las heridas traumáticas o quirúrgicas por estreptococos produce bacteriemia, que puede volverse letal con rapidez. También se observa bacteriemia por *S. pyogenes* en caso de infecciones cutáneas, como la celulitis, y en contadas ocasiones, la faringitis.

B. Enfermedades atribuibles a la infección local por *S. pyogenes* y sus productos derivados

1. Faringitis estreptocócica La infección más frecuente por *S. pyogenes* β hemolítico es la faringitis estreptocócica. *S. pyogenes* se adhiere al epitelio faríngeo por medio de fimbrias superficiales cubiertas de ácido lipoteicoico y también por medio de ácido hialurónico en las cepas encapsuladas. La fibronectina de glucoproteína (peso molecular de 440 000) en las células epiteliales probablemente funciona como ligando para el ácido lipoteicoico. En los lactantes y en los niños pequeños, la faringitis ocurre como una rinofaringitis subaguda con una secreción serosa líquida y poca fiebre pero con una tendencia de la infección a extenderse hacia el oído medio y la apófisis mastoides. Los ganglios linfáticos cervicales suelen estar aumentados de tamaño. La enfermedad puede persistir durante semanas. En los niños mayores y en los adultos la enfermedad es más aguda y se caracteriza por rinofaringitis intensa, amigdalitis e hiperemia intensa y edema de las mucosas, con exudado purulento, adenomegalia cervical dolorosa y por lo general fiebre alta. Cerca de 20% de las infecciones son asintomáticas. Puede presentarse un cuadro clínico similar con mononucleosis infecciosa, difteria, infección gonocócica e infección por adenovirus.

La infección por *S. pyogenes* de las vías respiratorias altas por lo común no abarca los pulmones. Si surge neumonía, su evolución es rápida y grave, y muy a menudo es una secuela de infecciones virales, como influenza o sarampión, que al parecer

aumentan mucho la predisposición a infecciones bacterianas sobreañadidas por el patógeno mencionado y otros más como *S. pneumoniae*.

2. Piodermia estreptocócica La infección local de las capas superficiales de la piel, sobre todo en los niños, se denomina **impétigo**. Consta de vesículas superficiales que se rompen y de zonas erosionadas cuya superficie desollada está cubierta de pus y luego se encostra. Se disemina por continuidad y es muy contagiosa, sobre todo durante los climas húmedos calientes. Ocurre una infección más generalizada en la piel eccematosa o herida o en las quemaduras y puede avanzar a celulitis. Las infecciones cutáneas por estreptococos del grupo A suelen ser atribuibles a los tipos M 49, 57 y 59 a 61 y pueden anteceder a la glomerulonefritis pero a menudo no originan fiebre reumática.

S. aureus puede provocar una infección que es idéntica en términos clínicos y a veces están presentes tanto *S. pyogenes* como *S. aureus*.

C. Infecciones invasivas por estreptococos del grupo A, síndrome de choque tóxico estreptocócico y fiebre escarlatina

Las infecciones fulminantes e invasoras por *S. pyogenes* que ocasionan el llamado **síndrome de choque tóxico estreptocócico** se caracterizan por choque, bacteriemia, insuficiencia respiratoria y falla de múltiples órganos. Cerca de la tercera parte de los pacientes fallece. Estas infecciones tienden a aparecer después de traumatismos menores en personas por lo demás sanas, con diversos cuadros de infección de tejidos blandos. Las infecciones comprenden fascitis necrosante, miositis e infecciones en otros tejidos blandos; la bacteriemia ocurre con frecuencia. En algunos pacientes, sobre todo en aquellos infectados por estreptococos del grupo A de los tipos M 1 o 3, la enfermedad se manifiesta por infección focal de tejidos blandos que se acompaña de fiebre y de choque rápidamente progresivo con falla de múltiples órganos. Puede presentarse eritema y descamación. Los *S. pyogenes* tipos M 1 y 3 (y tipos 12 y 28) que elaboran la exotoxina pirógena A o B se relacionan con las infecciones graves.

Las exotoxinas pirógenas A a C también producen **fiebre escarlatina** relacionada con faringitis por *S. pyogenes* o con infección cutánea o de tejidos blandos. La faringitis puede ser grave. El exantema aparece en el tronco después de 24 h de evolución de la enfermedad y se disemina para afectar las extremidades. El síndrome de choque tóxico estreptocócico y fiebre escarlatina son enfermedades que se traslapan clínicamente.

D. Enfermedades posestreptocócicas (fiebre reumática y glomerulonefritis)

Después de una infección aguda por *S. pyogenes*, hay un periodo de latencia de una a cuatro semanas, después de lo cual a veces se presenta nefritis o fiebre reumática. El periodo de latencia indica que estas enfermedades posestreptocócicas no son atribuibles al efecto directo de la bacteria diseminada, más bien representan una respuesta de hipersensibilidad. La nefritis más a menudo va precedida de una infección de la piel; la fiebre reumática con más frecuencia va precedida de una infección del sistema respiratorio.

1. Glomerulonefritis aguda Este trastorno puede surgir una a cinco semanas (media de siete días) después de infección cutánea por *S. pyogenes* (piodermia, impétigo) o faringitis. Algunas cepas son particularmente nefritógenas, en particular los tipos M 2, 42, 49, 56, 57 y 60 (piel). Otros tipos M nefritógenos que ocasionan infecciones faríngeas y glomerulonefritis son 1, 4, 12 y 25. Después de infecciones cutáneas aleatorias por estreptococos la incidencia de nefritis es menor de 0.5 por ciento.

La glomerulonefritis puede ser desencadenada por complejos antígeno/anticuerpo en la membrana basal del glomérulo. Se piensa que los antígenos más importantes son SpeB y un receptor de plasmina vinculado con nefritis. En la nefritis aguda la persona muestra sangre y proteínas en la orina, edema, hipertensión arterial y retención de nitrógeno ureico; también hay concentraciones bajas de complemento sérico. Pocos pacientes fallecen; algunos presentan glomerulonefritis crónica con insuficiencia renal al final y la mayoría se restablece por completo.

2. Fiebre reumática Ésta es la secuela más grave de la infección por *S. pyogenes*, pues produce lesión del músculo y las válvulas del corazón. Determinadas cepas de estreptococos del grupo A contienen antígenos de la membrana celular que tienen reacción cruzada con antígenos de tejido cardiaco humano. El suero de pacientes con fiebre reumática contiene anticuerpos contra estos antígenos.

Una a cinco semanas (media de 19 días) antes de aparecer la fiebre reumática suele identificarse faringitis por *S. pyogenes,* aunque el cuadro puede ser leve y a veces pasa inadvertido. Sin embargo, en términos generales, las personas con faringitis estreptocócica más grave tienen una mayor posibilidad de presentar fiebre reumática y esta última no se relaciona con infecciones cutáneas por estreptococos. En la década de 1950, las infecciones estreptocócicas no tratadas se acompañaban de fiebre reumática hasta en 3% del personal militar y en 0.3% de niños civiles. Entre los años 1980 y 2000 en Estados Unidos hubo un resurgimiento de la ARF. Los tipos M 1, 3, 5, 6 y 8 fueron los involucrados con más frecuencia. Desde entonces, la incidencia de nuevo ha disminuido. La fiebre reumática tiene una frecuencia hasta 100 veces más alta en países tropicales y es la causa más importante de cardiopatía en gente joven en países en desarrollo.

Los signos y síntomas característicos de la fiebre reumática comprenden fiebre, malestar general, poliartritis migratoria no purulenta y signos de inflamación de todas las capas del corazón (endocardio, miocardio y pericardio). Es característico que la carditis produzca engrosamiento y deformación de las válvulas y que ocasione granulomas perivasculares pequeños en el miocardio (cuerpos de Aschof) que finalmente son reemplazados por tejido cicatrizal. Algunos pacientes padecen insuficiencia cardiaca congestiva grave y progresiva. La corea de Sydenham es otra manifestación de la ARF y se caracteriza por debilidad muscular y movimientos involuntarios no coordinados. Se ha planteado la hipótesis de que otros tipos de trastornos neuroconductuales también suceden a las infecciones estreptocócicas. Se denominan PANDAS (*p*ost-streptococal *a*utoimmune, *n*europsychiatric *d*isorders *a*ssociated with *s*treptococci). Es necesario investigar más para establecer de manera definitiva un vínculo con infecciones por *S. pyogenes*.

La velocidad de eritrosedimentación, las concentraciones séricas de transaminasas, los electrocardiogramas y otras pruebas sirven para valorar la actividad reumática.

La fiebre reumática tiene una notable tendencia a reactivarse por infecciones estreptocócicas recidivantes, en tanto que la nefritis, no. El primer ataque de fiebre reumática por lo general produce sólo una leve lesión cardiaca, la que, no obstante, se incrementa con cada crisis subsiguiente. Por lo tanto, es importante proteger a estos pacientes de las infecciones recidivantes por *S. pyogenes* mediante la administración profiláctica de penicilina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras que se obtienen dependen de las características de la infección estreptocócica. Se obtiene un exudado faríngeo, pus, líquido cefalorraquídeo u otro líquido corporal estéril. Se obtiene suero para las determinaciones de anticuerpos.

B. Frotis

Los frotis de pus a menudo muestran cocos individuales o pares más que cadenas definidas. Los cocos a veces son gramnegativos, pues los microorganismos ya no son viables y han perdido su capacidad para retener el colorante azul (violeta cristal) y ser grampositivos. Si los frotis de pus muestran estreptococos pero los cultivos no logran desarrollar el microorganismo, se deben sospechar microorganismos anaerobios. Los frotis de exudados faríngeos pocas veces contribuyen al diagnóstico, pues siempre están presentes estreptococos viridans y tienen el mismo aspecto que los estreptococos del grupo A en los frotis teñidos.

C. Cultivo

Las muestras en las que se sospecha que hay estreptococos se cultivan en placas de agar sangre. Si se sospechan anaerobios, también se deben inocular medios anaerobios adecuados. La incubación en CO_2 al 10% a menudo acelera la hemólisis. Colocar el inóculo dentro de cortes profundos en el agar sangre tiene un efecto similar, pues el oxígeno no se difunde con facilidad a través del medio hasta los microorganismos que se encuentran en la profundidad, y es el oxígeno el que inactiva a la estreptolisina O.

En los hemocultivos se desarrollan estreptococos hemolíticos del grupo A (p. ej., en la septicemia) al cabo de horas o de algunos días. Determinados estreptococos α hemolíticos y enterococos pueden desarrollarse con lentitud, de manera que los hemocultivos en los casos de endocarditis sospechada a veces no son positivos durante algunos días.

El grado y la clase de hemólisis (y el aspecto de la colonia) ayudan a ubicar a un microorganismo en un grupo definido. Se puede identificar *S. pyogenes* con pruebas rápidas específicas para la presencia del antígeno específico del grupo A y con la prueba de PYR. Los estreptococos que corresponden al grupo A se identifican de manera preliminar por la inhibición del desarrollo originada por la bacitracina, pero esto sólo debe utilizarse cuando no se disponga de pruebas más definitivas.

D. Pruebas de detección de antígeno

Se dispone de varios equipos comerciales para la detección rápida de antígeno estreptocócico del grupo A a partir de exudados faríngeos. Estos equipos utilizan métodos enzimáticos o químicos para extraer el antígeno del frotis, luego utilizan pruebas de inmunoanálisis enzimático (EIA, *enzime immunoassay*) o de aglutinación para demostrar la presencia del antígeno. Las pruebas pueden concluirse minutos a horas después de la obtención de la muestra. Tienen una sensibilidad de 60 a 90%, lo que depende de la prevalencia de la enfermedad en la población y tienen una especificidad de 98 a 99% cuando se comparan con los métodos de cultivo. Ahora se dispone de análisis más sensibles que utilizan sondas de DNA o técnicas de amplificación de ácido nucleico que sustituyen a las pruebas más antiguas de la detección de antígeno, si bien su costo sigue siendo más elevado.

E. Pruebas serológicas

Se puede calcular un aumento del título de anticuerpos contra muchos antígenos estreptocócicos del grupo A. Tales anticuerpos comprenden ASO, sobre todo en caso de enfermedad respiratoria; anti-DNasa B y anti-hialuronidasa, sobre todo en las infecciones de la piel; antiestreptocinasa; anticuerpos anti-M específicos y otros más. De estos, el que más se utiliza es el título de anti-ASO.

Inmunidad

La resistencia contra las enfermedades estreptocócicas es específica para el tipo M. Por consiguiente, un hospedador que se ha restablecido tras la infección por un estreptococo del grupo A de tipo M es relativamente inmune a la reinfección por el mismo tipo pero completamente sensible a la infección por otro tipo M. Se pueden demostrar anticuerpos anti-M específicos en una prueba que aprovecha el hecho de que los estreptococos rápidamente son destruidos después de la fagocitosis. La proteína M interfiere en la fagocitosis, pero en presencia de anticuerpos específicos contra un tipo de proteína M, los estreptococos son destruidos por los leucocitos humanos.

El anticuerpo contra la estreptolisina O se presenta después de una infección; bloquea la hemólisis ejercida por la estreptolisina O, pero no indica inmunidad. Los títulos altos (> 250 unidades) indican infecciones recientes o repetidas y se encuentran más a menudo en personas reumáticas que en quienes tienen infecciones estreptocócicas sin complicaciones.

Tratamiento

Todas las cepas de *S. pyogenes* son susceptibles a la acción de la penicilina G. A menudo se recomienda el uso de macrólidos como la eritromicina y la clindamicina en sujetos alérgicos a la penicilina y en pacientes con fascitis necrosante. Sin embargo, ha ido en aumento la resistencia a macrólidos en Europa y Estados Unidos. Algunos son resistentes a las tetraciclinas. Los antimicrobianos no tienen acción en casos de glomerulonefritis o fiebre reumática establecidos. Sin embargo, en las infecciones estreptocócicas agudas se debe hacer todo lo posible por erradicar con rapidez los estreptococos del paciente, eliminar el estímulo antigénico (antes del día 8) y, por lo tanto, prevenir

apter 14_Carroll_4R.indd 219 14/04/16

la enfermedad posestreptocócica. Las dosis de penicilina o eritromicina que producen concentraciones eficaces en los tejidos durante 10 días suelen lograr esto. Los antimicrobianos también son muy útiles para prevenir la reinfección por estreptococos β hemolíticos del grupo A en los pacientes con fiebre reumática.

Epidemiología, prevención y control

Aunque los seres humanos pueden ser portadores asintomáticos de *S. pyogenes* en la nasofaringe o perineo, el microorganismo se debe considerar importante si se detecta mediante cultivo u otros medios. La fuente final de estreptococos del grupo A es una persona que alberga estos microorganismos. El individuo puede tener una infección clínica o asintomática o puede ser un portador que distribuya los estreptococos directamente a las demás personas a través de gotículas del aparato respiratorio o por la piel. Las secreciones nasales de una persona que alberga *S. pyogenes* son la fuente más peligrosa de diseminación de estos microorganismos.

Otros muchos estreptococos (como los estreptococos viridans y los enterococos) son parte de la microbiota normal del cuerpo humano. Ocasionan enfermedad sólo cuando se establecen en zonas corporales que normalmente no son su punto de residencia (como las válvulas del corazón). Para evitar accidentes de ese tipo, en particular durante métodos quirúrgicos de los aparatos respiratorio, digestivo y urinario que provocan bacteriemia temporal, suelen administrarse antimicrobianos con fin profiláctico a personas con alguna deformidad valvular conocida o a las que tienen prótesis valvulares o articulares. Las guías publicadas por la *American Heart Association* y otras sociedades profesionales en Estados Unidos han esclarecido algunas de las recomendaciones (Wilson *et al*., 2007).

Los procedimientos de control se dirigen principalmente a la fuente humana:

1. Detección y tratamiento antimicrobiano inicial de infecciones respiratorias y cutáneas por estreptococos del grupo A. La erradicación rápida de estreptococos de infecciones tempranas evita de manera eficaz la presentación de la enfermedad posestreptocócica. Para esto es necesario el mantenimiento de las concentraciones adecuadas de penicilina en los tejidos durante 10 días (p. ej., penicilina G benzatínica administrada una vez por vía intramuscular). La eritromicina es otra opción, aunque algunas cepas de *S. pyogenes* son resistentes.
2. Quimioprofilaxia antiestreptocócica en las personas que han padecido una crisis de fiebre reumática. Esto consiste en administrar una inyección de penicilina G benzatínica por vía intramuscular, cada tres a cuatro semanas, o penicilina o sulfonamida por vía oral todos los días. El primer ataque de fiebre reumática pocas veces produce lesión cardiaca importante; sin embargo, tales personas son muy susceptibles a las reinfecciones por estreptococos que desencadenan recaídas de actividad reumática y dan origen a la lesión cardiaca. La quimioprofilaxia en estos pacientes, sobre todo en niños, debe continuarse durante años. No se utiliza la quimioprofilaxia en la glomerulonefritis debido al pequeño número de tipos de estreptococos nefritógenos. Una excepción pueden ser los grupos de familias con una tasa alta de nefritis posestreptocócica.
3. Erradicación de *S. pyogenes* de los portadores. Esto es muy importante cuando los portadores están en zonas como salas obstétricas, quirófanos, aulas o salas de recién nacidos. Por desgracia, suele ser difícil erradicar estreptococos β hemolíticos de portadores permanentes y en ocasiones los individuos tienen que alejarse de zonas "sensibles" por algún tiempo.

Verificación de conceptos

- Los estreptococos son un gran grupo de microorganismos grampositivos catalasa negativos y que tienden a proliferar en pares y en cadenas largas.
- Ningún sistema ha permitido clasificar con exactitud a todos los estreptococos y la taxonomía no deja de evolucionar. Entre las clasificaciones importantes están el tipo de hemólisis (α, β, o ausencia de hemólisis [γ]), los elementos necesarios para la proliferación y su capacidad patógena.
- Los estreptococos proliferan de manera satisfactoria en agar sangre de oveja al 5% y otros medios que inducen la proliferación de cocos grampositivos.
- El patógeno más virulento de la familia de *Streptococcus* es *S. pyogenes* (estreptococo β hemolítico del grupo A). Elabora innumerables proteínas, hemolisinas, enzimas y toxinas que causan muy diversos cuadros de enfermedades supurativas (como celulitis) y de tipo inmunitario (como la glomerulonefritis o la fiebre reumática posestreptocócica), por este microorganismo.

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

Estos son los **estreptococos del grupo B**. Es característico que sean β hemolíticos y produzcan zonas de hemólisis que sólo son un poco mayores que las colonias (1 a 2 mm de diámetro). Los estreptococos del grupo B producen hidrólisis del hipurato de sodio y una respuesta positiva en la llamada prueba de CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson).

Los estreptococos del grupo B son parte de la microflora vaginal normal y del tubo digestivo bajo en 5 a 30% de las mujeres. La infección estreptocócica del grupo B durante el primer mes de vida puede presentarse como septicemia fulminante, meningitis o síndrome de insuficiencia respiratoria. Después de haber seguido las recomendaciones planteadas en 1996 para someter a estudios de detección a las embarazadas entre las 35 y 37 semanas de gestación, se observaron disminuciones sustanciales en la incidencia de infecciones por estreptococos del grupo B de comienzo temprano en recién nacidos; tal planteamiento se realiza por el uso de cultivos de caldo de enriquecimiento o métodos moleculares en exudados rectal o vaginal obtenidos al momento de la técnica de detección. La colonización del producto y la enfermedad ulterior por estreptococos del grupo B se impide por medio de la administración de ampicilina intravenosa en mujeres colonizadas por dichos gérmenes que están en trabajo de parto. Las infecciones por estreptococos del grupo B están aumentando en personas adultas no embarazadas. Dos poblaciones que están aumentando,

concretamente los ancianos y los hospedadores inmunodeprimidos, son los que tienen más riesgo de enfermedad invasiva. Los factores predisponentes comprenden diabetes mellitus, cáncer, edad avanzada, cirrosis hepática, tratamiento con corticoesteroides, infección por VIH y otros estados de inmunodepresión. La bacteriemia, las infecciones de la piel y los tejidos blandos, las infecciones respiratorias y las infecciones genitourinarias en orden de frecuencia descendente constituyen las principales manifestaciones clínicas.

GRUPOS C Y G

Estos estreptococos a veces se presentan en la nasofaringe y pueden causar faringitis, sinusitis, bacteriemia o endocarditis. A menudo tienen el aspecto de *S. pyogenes* del grupo A en medio de agar sangre y son β hemolíticos. Se identifican por las reacciones con antisueros específicos para los grupos C o G. Los estreptococos de grupos C y G poseen hemolisinas y pueden tener proteínas M análogas a las de *S. pyogenes* del grupo A. En contadas ocasiones se han notificado secuelas posestreptocócicas como la glomerulonefritis aguda (AGN, *acute glomerulonephritis*) y la fiebre reumática.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO D

Los estreptococos del grupo D en fecha reciente experimentaron cambios taxonómicos. Hay ocho especies en este grupo, muchas de las cuales no causan infecciones en el ser humano. El grupo de *Streptococcus bovis* tiene gran importancia para la enfermedad humana y se clasifica además en biotipos (clasificación antigua), que tienen importancia epidemiológica y, en tiempos más recientes, en cuatro complejos de DNA. Las especies animales del grupo bovis se han asignado a la especie *S. equinus* (complejo de DNA I). Las cepas de biotipo I (en complejo de DNA II) fermentan manitol y en la actualidad se designan como *Streptococcus gallolyticus* subespecie *gallolyticus*. Este microorganismo produce endocarditis humana y a menudo se relaciona epidemiológicamente con carcinoma del colon. El complejo II de DNA incluye también *S. gallolyticus subespecie pasteurianus* (antes *S. bovis* biotipo II.2) y *S. gallolyticus* subespecie *macedonius*. En la actualidad, *S. bovis* biotipo II.1 se sitúa dentro del complejo III de DNA y tiene el mismo nombre de especie *Streptococcus infantarius* que comprende dos subespecies (*infantarius* y *coli*). Las bacteriemias por el biotipo II suelen relacionarse con focos en vías biliares, y con menor frecuencia, con endocarditis. Por último, el complejo IV de DNA incluye una especie, *Streptococcus alactolyticus*. Ante la confusa taxonomía y la imposibilidad de que con los sistemas automatizados o equipos se pueda discriminar la subespecie, es posible que muchos laboratorios de microbiología diagnóstica sigan denominando a tales microorganismos como del grupo de *Streptococcus bovis* o del grupo D no enterococos. Todos los estreptococos del grupo D son no hemolíticos y son PYR negativos. Proliferan en presencia de bilis e hidrolizan la esculina (esculina biliar-positivos), pero no crecen en solución de NaCl al 6.5%. Son parte de la microbiota entérica normal de seres humanos y animales.

GRUPO DE *STREPTOCOCCUS ANGINOSUS*

Otras especies dentro del grupo de *S. anginosus* son *Streptococcus constellatus* y *Streptococcus intermedius*. Los estreptococos mencionados son parte de la microbiota normal de la faringe, el colon y las vías urinarias; pueden ser β, α, o no hemolíticos. El grupo de *Streptococcus anginosus* comprende estreptococos β hemolíticos que forman colonias minúsculas (< 0.5 mm de diámetro) y reaccionan con antisueros de los grupos A, C o G y todos los estreptococos β hemolíticos del grupo F. Los que pertenecen al grupo A son PYR negativos. *S. anginosus* muestra positividad en la prueba de Voges-Proskauer. Se les clasifica a veces como estreptococos viridans. Los microorganismos en cuestión a menudo ocasionan infecciones graves como abscesos en cerebro, pulmones e hígado. Se les detecta con facilidad en el laboratorio por su olor característico a caramelo de azúcar y mantequilla, o caramelo.

ESTREPTOCOCOS DE LOS GRUPOS E, F, G, H Y K-U

Estos estreptococos se presentan principalmente en animales. Una de las múltiples especies de estreptococos del grupo G, *S. canis*, puede causar infecciones cutáneas en los perros pero pocas veces infecta al ser humano; otras especies de estreptococos del grupo G infectan al ser humano.

Verificación de conceptos

- Los estreptococos que tienen antígenos Lancefield que no pertenecen al grupo A constituyen un conjunto heterogéneo de microorganismos que abarcan otros estreptococos piógenos (grupos B, C y G), estreptococos que aparecen sobre todo en animales (E, H y K a U), y el grupo de *S. bovis* (grupo D) y miembros variantes de colonias pequeñas del grupo *S. anginosus* (primariamente del grupo F).
- *S. agalactiae* (estreptococos del grupo B) son patógenos importantes en embarazadas y sus recién nacidos. La aplicación de técnicas rectales y vaginales de detección sistemática entre las 35 y las 37 semanas del embarazo y el tratamiento de las gestantes colonizadas con penicilina durante el trabajo de parto han aminorado de manera significativa la incidencia de infecciones neonatales de comienzo temprano por estreptococos del grupo B.
- Los estreptococos de los grupos C y G ocasionan infecciones similares a las producidas por los estreptococos del grupo A, que incluyen informes raros de secuelas posestreptocócicas como glomerulonefritis aguda y fiebre reumática.
- El grupo de *S. bovis* (grupo D no enterocócico) ha sufrido una reclasificación taxonómica muy importante. Los microorganismos de esta categoría son PYR negativos y esculina biliar positivos, pero no proliferan en solución de NaCl al 6.5%. Se les ha vinculado con casos de bacteriemia y endocarditis en personas con enfermedades graves de vías biliares o del colon, incluidos carcinomas.
- Los miembros del grupo *S. anginosus* (que incluye *S. intermedius, S. constellatus*) pueden ser β hemolíticos que poseen los antígenos de Lancefield A, C, F y G; tienden a

ser variantes de colonias pequeñas (< 0.5 mm) y producen abscesos del cerebro, los pulmones y el hígado.

ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

Las innumerables especies de los estreptococos viridans se clasifican en grupos como el grupo de *Streptococcus mitis*, el de *S. anginosus* (véase antes), el de *S. mutans, el* de *S. salivarius* y el de *S. bovis* (véanse párrafos anteriores). En forma típica son α hemolíticos pero también pueden ser no hemolíticos. Como se revisó en párrafos anteriores, los miembros del grupo *S. anginosus* pueden ser β hemolíticos. La optoquina no inhibe su proliferación y las colonias no son solubles en bilis (desoxicolato). Los estreptococos viridans son los miembros más prevalentes de la microbiota normal de las vías respiratorias altas, y en ese sitio son importantes para el estado sano de las membranas mucosas. Pueden llegar a la circulación sanguínea como resultado de traumatismo y son una causa principal de endocarditis en las válvulas cardiacas anormales. Algunos estreptococos viridans (p. ej., *S. mutans*) sintetizan grandes polisacáridos como dextranos o levanos a partir de sacarosa y contribuyen en grado importante a la patogenia de la caries dental.

En el curso normal de la bacteriemia, los estreptococos viridans o enterococos, y rara vez neumococos, pueden asentarse en válvulas cardiacas normales o deformadas con anterioridad, lo que produce **endocarditis aguda**. La rápida destrucción de las válvulas a menudo lleva a insuficiencia cardiaca letal en días o semanas, a menos que sea realizada cirugía de sustitución de una prótesis valvular durante o en seguida de la antibioticoterapia. Los estreptococos viridans se asocian con más frecuencia a un curso subagudo.

La **endocarditis subaguda** suele abarcar válvulas anormales (deformidades congénitas o lesiones de origen reumático o ateroesclerótico). Cualquier microorganismo que llegue a la corriente sanguínea puede establecerse en las lesiones trombóticas que surgen en el endotelio lesionado como consecuencia de las grandes tensiones de la circulación, pero la endocarditis subaguda suele ser causada por miembros de la microbiota normal de las vías respiratorias o intestinales que accidentalmente llegaron a la sangre. Después de extracción de piezas dentales, al menos 30% de los pacientes tiene bacteriemia por estreptococos viridans; estos microorganismos, que suelen ser los miembros más frecuentes de la microbiota de las vías respiratorias altas, también son la causa más frecuente de endocarditis bacteriana subaguda. Los estreptococos del grupo D (enterococos y *S. bovis*) también son causas frecuentes de endocarditis subaguda. Alrededor de 5 a 10% de los casos se debe a enterococos que se originan en el intestino o en las vías urinarias. La lesión tiene una evolución lenta y un determinado grado de cicatrización acompaña a la inflamación activa; las vegetaciones constan de fibrina, plaquetas, eritrocitos y bacterias adheridos a las valvas. La evolución clínica es gradual, pero la enfermedad siempre resulta letal en los casos no tratados. El cuadro clínico característico comprende fiebre, anemia, debilidad, un soplo cardiaco, fenómenos embólicos, esplenomegalia y lesiones renales.

Los estreptococos y los enterococos α hemolíticos tienen una sensibilidad variable a los antimicrobianos. Sobre todo en la endocarditis bacteriana, son convenientes las pruebas de sensibilidad a antibióticos para determinar cuáles fármacos se pueden administrar en el tratamiento óptimo. Los aminoglucósidos a menudo aumentan la intensidad de la acción bactericida de la penicilina sobre los estreptococos, en particular en los enterococos.

ESTREPTOCOCOS NUTRICIONALMENTE VARIABLES

Los estreptococos nutricionalmente variables (NVS, *nutritionally variant streptococci*) en la actualidad se incluyen en el género *Abiotropia* (*Abiotrophia defectiva* es la especie aislada) y el género *Granulicatella* (dos especies *G. adiacens* y *G. elegans*). También se han conocido como “estreptococos nutricionalmente deficientes” y “estreptococos dependientes de piridoxal”. Necesitan piridoxal o cisteína para proliferar en agar sangre y formar colonias satélites alrededor de colonias de estafilococos y otras bacterias que producen piridoxal. El complemento sistemático del medio de agar sangre con piridoxal permite la identificación de los microorganismos. Por lo común son hemolíticos α, pero también pueden ser no hemolíticos. Se ha demostrado que la técnica MALDI-TOF MS permite distinguirlos de los estreptococos y otros cocos grampositivos catalasa negativos. NVS son parte de la microbiota normal y en ocasiones provocan bacteriemia o endocarditis y se les identifica en abscesos cerebrales y en otras infecciones, las que, en términos clínicos, son muy semejantes a las causadas por estreptococos viridans.

PEPTOSTREPTOCOCCUS Y GÉNEROS AFINES

Los estreptococos de esta categoría proliferan en medios anaerobios o microaerófilos y producen variablemente hemolisinas;

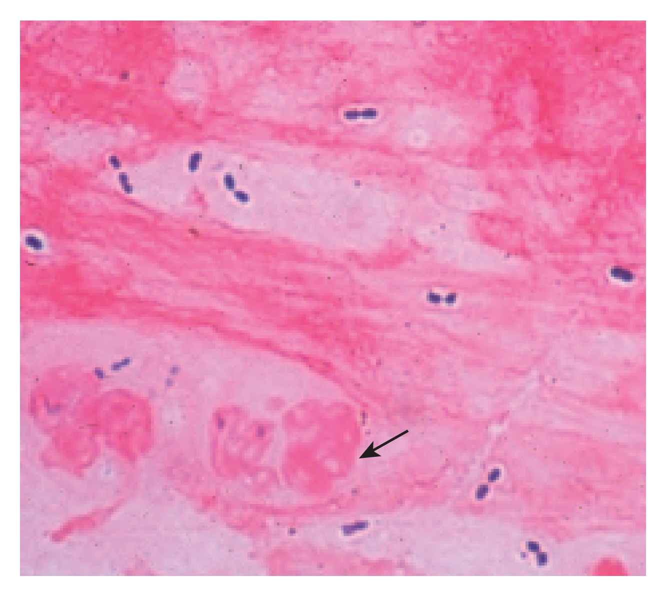


FIGURA 14-3 *Streptococcus pneumoniae* en esputo que se observa como diplococos grampositivos en forma de lanceta. Los núcleos en degeneración de las células polimorfonucleares son las formaciones rojas irregulares más oscuras de gran tamaño (*flecha*). Hay moco y residuos amorfos en el fondo. Aumento del original × 1000.

son parte de la microbiota normal de la boca, vías respiratorias altas, intestinos y aparato genital femenino. A menudo participan con muchas otras especies de bacterias en infecciones anaerobias mixtas (capítulo 21). Estas infecciones pueden ocurrir en heridas, en la mama, en la endometritis puerperal, tras la perforación de una víscera abdominal, en el cerebro o en la supuración crónica del pulmón. El pus suele tener un olor fétido.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

S. pneumoniae (neumococos) es un miembro del grupo *S. mitis* (cuadro 14-1) y son indistinguibles de ellos si se toma como base el 16SrNA. Los neumococos son diplococos grampositivos, a menudo en forma de lanceta o disposición en cadenas, con una cápsula de polisacárido que permite la tipificación con antisuero específico. Los neumococos experimentan lisis en forma rápida por compuestos con actividad en la superficie, lo cual probablemente elimina o inactiva a los inhibidores de las autolisinas de la pared celular. Los neumococos son residentes normales de las vías respiratorias altas de 5 a 40% de los seres humanos y pueden causar neumonía, sinusitis, otitis, bronquitis, bacteriemia, meningitis y otros procesos infecciosos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los típicos diplococos grampositivos, en forma de lanceta (figura 14-3) suelen detectarse en muestras de cultivos recientes. En esputo o en pus, también se observan cocos individuales o cadenas. Con la edad, los microorganismos rápidamente se vuelven gramnegativos y tienden a experimentar lisis espontánea. La autólisis de neumococos se intensifica en forma considerable por compuestos con actividad en la superficie. La lisis de neumococos ocurre en el término de algunos minutos cuando se añade bilis oxidada (10%) o desoxicolato de sodio (2%) a un caldo de cultivo o suspensión de microorganismos a un pH neutral. Los estreptococos viridans no experimentan lisis y, por lo tanto, se distinguen con facilidad de los neumococos. En medios sólidos la multiplicación de los neumococos se inhibe alrededor de un disco de optoquina; los estreptococos viridans no son inhibidos por la optoquina (figura 14-4).

Otros puntos para la identificación son la virulencia casi uniforme para los ratones cuando se inyectan dentro del peritoneo y la "prueba de tumefacción de la cápsula" o reacción de tumefacción capsular (véase más adelante).

B. Cultivo

Los neumococos forman pequeñas colonias redondas, en el comienzo en forma de cúpula y luego presentan una depresión central con un borde elevado. Otras colonias pueden tener aspecto brilloso por la producción de polisacárido capsular. Los neumococos son α hemolíticos en el agar sangre y su proliferación mejora con la adición de CO_2 al 5 a 10 por ciento.

C. Características de crecimiento

La mayor parte de la energía se obtiene de la fermentación de glucosa que se acompaña de la rápida producción de ácido láctico, lo cual limita la multiplicación. La neutralización de caldos de cultivo con álcali a intervalos produce un desarrollo masivo.

D. Variación

Las cepas de neumococos que producen grandes cantidades de cápsulas forman colonias mucoides de gran tamaño. La producción de cápsula no es esencial para el desarrollo en agar y, por lo tanto, tal producción se pierde después de un pequeño número de subcultivos. Sin embargo, los neumococos producirán de nuevo cápsula y tienen una mayor virulencia si se inyectan en ratones.

Estructura antigénica

A. Estructuras componentes

La pared del neumococo tiene un peptidoglucano y ácido teicoico en forma similar a lo observado en otros estreptococos. El polisacárido capsular está unido por enlaces covalentes al peptidoglucano y al polisacárido parietal. El polisacárido capsular es inmunológicamente diferente en cada uno de los 91 tipos. El polisacárido C que aparece en la pared de *S. pneumoniae* puede detectarse en la orina y en líquido cefalorraquídeo (LCR), una prueba diagnóstica útil para identificar infecciones por neumococos.

B. Reacción de tumefacción capsular

Cuando los neumococos de determinado tipo se mezclan con suero antipolisacárido específico del mismo tipo (o con antisuero polivalente) en un portaobjetos, la cápsula se hincha de manera marcada y los microorganismos se aglutinan por el enlace cruzado de los anticuerpos (figura 14-4C). Esta reacción ayuda a la identificación rápida y la tipificación de los microorganismos, ya sea en el esputo o en los cultivos. El antisuero polivalente, que contiene anticuerpos contra todos los tipos ("omnisuero") es un buen reactivo para la determinación microscópica rápida de la presencia o ausencia de neumococos en el esputo fresco. Esta prueba se utiliza rara vez debido al costo alto del reactivo y la destreza exigida en la realización e interpretación del análisis.

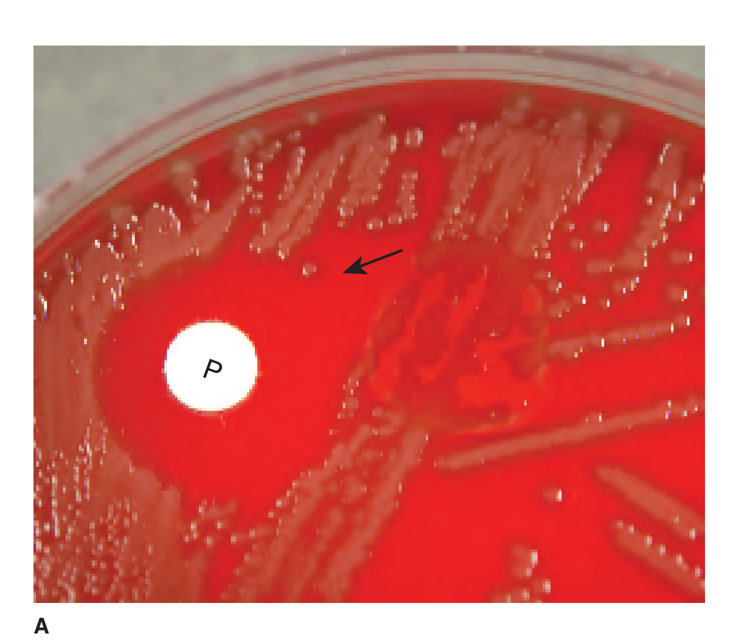
Patogenia

A. Tipos de neumococos

En los adultos, los tipos 1 a 8 son causa de casi 75% de los casos de neumonía neumocócica y de más de la mitad de todos los decesos en la bacteriemia neumocócica. En los niños, los tipos 6, 14, 19 y 23 son causas frecuentes.

B. Producción de la enfermedad

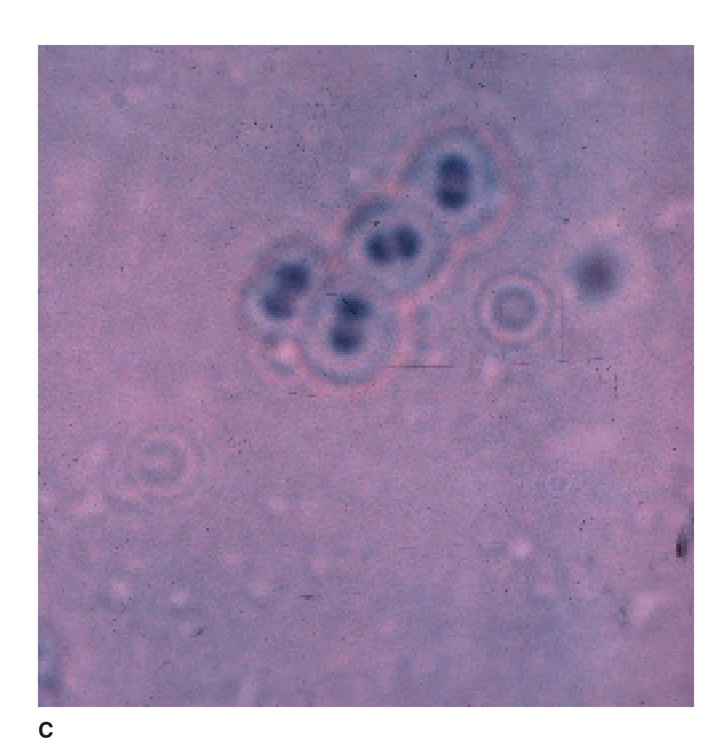
Los neumococos producen la enfermedad por su capacidad para multiplicarse en los tejidos. La virulencia del microorganismo depende de su cápsula, lo cual evita o retarda la ingestión a cargo de los fagocitos. Un suero que contiene anticuerpos contra polisacárido específico protege contra la infección. Si tal suero se absorbe con el polisacárido específico, pierde su potencia protectora. Los animales o los seres humanos inmunizados con un determinado tipo de polisacárido neumocócico después se vuelven inmunes a ese tipo de neumococo y poseen anticuerpos precipitantes y opsonizantes para este tipo de polisacárido.



A



B



C

FIGURA 14-4 **A:** Inhibición por la optoquina y solubilidad en bilis de *Streptococcus pneumoniae*. Los microorganismos *Streptococcus pneumoniae* fueron cultivados durante la noche en agar sangre de carnero al 5%. El disco de optoquina (clorhidrato de etilhidrocupreína) o P se colocó cuando se inoculó la placa. Los neumococos son α hemolíticos con una zona verde del agar alrededor de las colonias. La zona de inhibición alrededor del disco P es > 14 mm, lo que indica que los microorganismos son neumococos y no estreptococos viridans. Se colocó una gota de solución de desoxicolato (bilis) en el desarrollo durante la noche justo a la derecha de la zona P del disco (*flecha*); después de unos 20 min a temperatura ambiente, las colonias de neumococos se solubilizaron (solubles en bilis). **B:** El desarrollo de estreptococos viridans al parecer es similar al de los neumococos, pero el de estreptococo viridans no es inhibido por la optoquina. **C:** Reacción de tumefacción capsular de *Streptococcus pneumoniae*: una pequeña cantidad del cultivo se mezcla con solución salina, antisueros contra el polisacárido de la cápsula y tinción de azul de metileno. Después de la incubación a una temperatura ambiente durante una hora, se observa la reacción en el microscopio. Los microorganismos están resaltados en azul claro. Una reacción positiva muestra aglutinados por el enlace cruzado de los anticuerpos y los neumococos. El efecto de halo alrededor de los neumococos es la tumefacción capsular evidente. Un control negativo no demostraría aglutinación o tumefacción de la cápsula. (Cortesía de H. Reyes.)

C. Pérdida de la resistencia natural

Dado que 40 a 70% de los seres humanos en algún momento es portador de neumococos virulentos, la mucosa respiratoria normal debe poseer una gran resistencia natural contra el neumococo. Entre los factores que probablemente disminuyen esta resistencia y, por lo tanto, predisponen a la infección neumocócica están los siguientes:

1. Infecciones virales y de otro tipo del aparato respiratorio que lesionan las células de la superficie; acumulaciones anormales de moco (p. ej., alergia), que protegen a los neumococos de la fagocitosis; obstrucción bronquial (p. ej., atelectasia) y lesión del aparato respiratorio por irritantes que alteran su función mucociliar.
2. Intoxicación por alcohol o fármacos, que deprimen la actividad fagocítica, deprimen el reflejo tusígeno y facilitan la broncoaspiración de sustancias extrañas.
3. Dinámica circulatoria anormal (p. ej., congestión pulmonar, insuficiencia cardiaca).
4. Otros mecanismos. Por ejemplo, desnutrición, debilidad general, anemia drepanocítica, hipoesplenismo, nefrosis o deficiencia de complemento.

Anatomía patológica

La infección neumocócica produce un derrame de líquido de edema fibrinoso hacia los alvéolos, seguido de eritrocitos y leucocitos, lo cual produce la consolidación de porciones del pulmón. Muchos neumococos se encuentran en todo este exudado y pueden llegar a la circulación sanguínea a través del drenaje linfático de los pulmones. Las paredes alveolares se mantienen normalmente intactas durante la infección. Después, los linfocitos mononucleares fagocitan en forma activa los residuos y esta fase líquida se reabsorbe de manera gradual. Los neumococos son captados por los fagocitos y digeridos en el interior de la célula.

Manifestaciones clínicas

El inicio de la neumonía neumocócica suele ser súbito con fiebre, escalofríos y un dolor pleural intenso. El esputo es similar al exudado alveolar y es característico que sea sanguinolento o de color herrumbroso. En las primeras etapas de la enfermedad, cuando la fiebre es alta, se presenta bacteriemia en 10 a 20% de los casos. Con el tratamiento antimicrobiano, la enfermedad suele terminar rápidamente; si se administran fármacos en las primeras etapas, se interrumpe el desarrollo de la consolidación.

La neumonía neumocócica debe diferenciarse del infarto pulmonar, atelectasia, neoplasias, insuficiencia cardiaca congestiva y neumonía causada por muchas otras bacterias. El empiema (pus en el espacio pleural) es una complicación importante y exige aspiración y drenaje.

Desde el aparato respiratorio, los neumococos pueden llegar a otros lugares. Los senos paranasales y el oído medio son los que resultan más afectados. La infección a veces se extiende desde la apófisis mastoides hasta las meninges. La bacteriemia por neumonía se manifiesta por una tríada de complicaciones graves: meningitis, endocarditis y artritis séptica. Con el empleo inicial de quimioterapia, la endocarditis neumocócica aguda y la artritis se han vuelto poco frecuentes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se obtiene sangre para cultivo; se obtiene líquido cefalorraquídeo y esputo para demostrar neumococos mediante frotis y cultivo. El líquido cefalorraquídeo y la orina pueden servir para detectar el polisacárido C del neumococo por métodos de inmunocromatografía rápida de membrana. Los estudios con anticuerpos séricos no son prácticos. Es indispensable enviar todas las muestras al laboratorio de microbiología lo antes posible después de obtenerlas porque los neumococos tienden a presentar autólisis, y cualquier retraso influirá de manera importante en su identificación en el cultivo. El esputo puede estudiarse por varias técnicas.

A. Frotis teñidos

Una película de esputo de color rojo herrumbroso en la tinción de Gram muestra microorganismos característicos, muchos neutrófilos polimorfonucleares y muchos eritrocitos.

B. Pruebas de hinchazón de la cápsula

El esputo emulsificado fresco mezclado con antisuero produce hinchazón de la cápsula (la reacción de tumefacción capsular) para la identificación de los neumococos.

C. Cultivo

El cultivo se lleva a cabo con el esputo en agar sangre y se incuba en CO_2 a 37 °C o una campana con vela. También se toma un hemocultivo.

D. Pruebas de amplificación de ácido nucleico

Varios fabricantes han incluido a la especie *S. pneumoniae* en páneles de identificación de ampolletas de cultivo de sangre positivas y algunos de estos análisis son autorizados por la FDA. Asimismo, están en desarrollo páneles para meningitis y páneles moleculares independientes para detección directa de *S. pneumoniae* en muestras respiratorias obtenidas de especímenes de pacientes con sospecha de tener neumonía hospitalaria o relacionada con la atención de la salud.

E. Inmunidad

La inmunidad a la infección por neumococos es específica y depende tanto de los anticuerpos contra polisacárido capsular como de la función fagocítica intacta. Las vacunas pueden activar la producción de anticuerpos contra polisacáridos capsulares (véase más adelante).

Tratamiento

En el transcurso de las últimas décadas los neumococos han aumentado más su resistencia a una amplia variedad de antimicrobianos. La penicilina G no puede ser considerada ya como el fármaco empírico de elección. Alrededor del 15% de neumococos de fuentes no meníngeas son resistentes a penicilina (concentración inhibidora mínima [MIC] ≥ 8 μg/ml). La penicilina G en dosis altas al parecer es eficaz para tratar la

neumonía causada por neumococos cuyo MIC a la penicilina es menor de 8 μg/ml (valor crítico de resistencia), pero tal vez no sea eficaz para tratar la meningitis causada por las mismas cepas. Algunas cepas resistentes a dicho antibiótico también lo son a la cefotaxima. También se advierte resistencia a la tetraciclina, la eritromicina y las fluoroquinolonas. Los neumococos siguen siendo susceptibles a la vancomicina. Debido a que no es posible predecir los perfiles de resistencia, en todas las infecciones neumocócicas deben realizarse pruebas ordinarias de susceptibilidad que utilicen un método para determinar los valores de MIC de aislados de sitios estériles.

Epidemiología, prevención y control

La neumonía neumocócica constituye casi 60% de todas las neumonías bacterianas. En el desarrollo de la enfermedad, los factores predisponentes (véase antes) son más importantes que la exposición al microorganismo infeccioso y el portador sano es más importante para diseminar los neumococos que el paciente enfermo.

Es posible inmunizar a las personas con polisacáridos específicos. Es probable que estas vacunas confieran una protección de 90% contra la neumonía bacteriémica. En Estados Unidos está autorizada una vacuna de polisacárido que contiene 23 tipos (PPSV-23).Una vacuna conjugada neumocócica contiene polisacáridos capsulares conjugados para proteína CRM_{197} de difteria. La vacuna actual conjugada es 13-valente. La vacuna conjugada antineumocócica de 13-valente (PCV-13) contiene los conjugados polisacáridos de los serotipos que aparecen en la vacuna heptavalente (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) además de los serotipos 1, 3, 5, 6A, 7F y 19A. Se recomienda en todos los niños administrar series de cuatro dosis que se aplicarán a los dos, cuatro, seis y 12 a 15 meses de edad. Los niños menores de 24 meses de vida que comenzaron su vacunación con PCV-7 y que recibieron una o más dosis completarán la serie con PCV-13. Los niños de mayor edad y los que tienen algún cuadro médico primario que fueron vacunados plenamente con PCV-7 deben recibir una sola dosis de PCV-13.

Las personas de 19 o más años con afecciones en que hay inmunodepresión deben recibir tanto PPSV23 como PCV13. El esquema para la administración de vacunas depende del tiempo y tipo de inmunización previos. Se refiere al lector a las últimas recomendaciones publicadas por los *Centers for Disease Control and Prevention* para conocer las guías y los esquemas actualizados (http://wwwcdc.gov/vaccines/schedules/downloads/adult/adultcombined-schedule.pdf). En 2014, además de la recomendación de recibir PPSV23, las personas con más de 65 años de edad deben ahora recibir también una dosis de PCV13. Para conocer la información completa véanse las guías antes mencionadas.

ENTEROCOCOS

Los enterococos tienen la sustancia específica del grupo D y se les clasificó en épocas pasadas como estreptococos del grupo D. El antígeno específico de la pared celular del grupo D es un ácido teicoico y no constituye un buen marcador antigénico; por ello, los enterococos suelen ser identificados por características distintas de la reacción inmunitaria con antisueros específicos de grupo. Son parte de la microbiota intestinal normal. Por lo común no son hemolíticos, aunque a veces son α hemolíticos o en menor medida β hemolíticos. Los enterococos son PYR positivos. Proliferan en presencia de bilis, hidrolizan la esculina (bilis y esculina positivos) y a diferencia de los estreptococos del grupo D no enterocócicos, proliferan de forma satisfactoria en un medio con NaCl al 6.5%. Los enterococos proliferan bien entre 10 y 45 °C, pero los estreptococos por lo regular necesitan límites más reducidos de temperatura. Son más resistentes a la penicilina G que los estreptococos. Muchas cepas son resistentes a la vancomicina.

Se conocen al menos 47 especies de enterococos, pero menos de un tercio de ellas ocasiona enfermedad en seres humanos. *Enterococcus faecalis* es el más frecuente y causa 85 a 90% de las infecciones enterocócicas, en tanto que *Enterococcus faecium* produce 5 a 10%. Los enterococos figuran entre las causas más frecuentes de infecciones intrahospitalarias, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos y son seleccionados por el tratamiento con cefalosporinas y otros antibióticos a los cuales son resistentes. Los enterococos se transmiten de un paciente a otro principalmente en las manos del personal hospitalario, algunos de los cuales son portadores de enterococos en el tubo digestivo. Los enterococos a veces se transmiten en dispositivos médicos. En los pacientes, los lugares de infección más frecuentes son el aparato urinario, las heridas, el sistema biliar y la sangre. Los enterococos pueden causar meningitis y bacteriemia en los recién nacidos. En los adultos, los enterococos pueden causar endocarditis. Sin embargo, en infecciones intraabdominales, heridas infectadas, infecciones urinarias y otras los enterococos suelen identificarse en cultivo junto con otras especies de bacterias, y es difícil definir su capacidad patógena en tales circunstancias clínicas.

Resistencia a antibióticos

Un problema importante con los enterococos es que pueden ser muy resistentes a los antibióticos. *E. faecium* suele ser mucho más resistente a los antibióticos que *E. faecalis*.

A. Resistencia intrínseca

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a las cefalosporinas, a las penicilinas resistentes a la penicilinasa y a los monobactámicos. Tienen una resistencia leve intrínseca a muchos aminoglucósidos, tienen una sensibilidad intermedia o son resistentes a las fluoroquinolonas y son menos susceptibles que los estreptococos (10 a 1 000 veces) a la penicilina y a la ampicilina. Los enterococos son inhibidos por los β lactámicos (p. ej., la ampicilina), pero en general no son destruidos por ellos. La resistencia alta a penicilina y ampicilina se debe más a menudo a proteínas de unión a penicilina alteradas; rara vez se han identificado cepas productoras de β lactamasa.

B. Resistencia a los aminoglucósidos

El tratamiento con combinaciones de un antibiótico con actividad en la pared celular (una penicilina o vancomicina) más un aminoglucósido (estreptomicina o gentamicina) es esencial para las infecciones enterocócicas graves como la endocarditis. Aunque los enterococos tienen una resistencia leve intrínseca a los aminoglucósidos (MIC < 500 μg/ml), tienen una

sensibilidad sinérgica cuando se tratan con un antibiótico que tiene actividad en la pared celular más un aminoglucósido. Sin embargo, algunos enterococos tienen resistencia intensa a los aminoglucósidos (MIC > 500 μg/ml) y no son susceptibles a la sinergia. Esta resistencia de alto grado a los aminoglucósidos se debe a enzimas que modifican los aminoglucósidos enterocócicos. Los genes que codifican la mayor parte de estas enzimas suelen hallarse en plásmidos conjugados o transposones. Las enzimas tienen diferente actividad contra los aminoglucósidos. La resistencia a la gentamicina pronostica la resistencia a otros aminoglucósidos, excepto estreptomicina. (La susceptibilidad a la gentamicina no pronostica la susceptibilidad a otros aminoglucósidos.) La resistencia a la estreptomicina no pronostica la resistencia a otros aminoglucósidos. El resultado es que sólo la estreptomicina o la gentamicina (o ambas o ninguna) tienen probabilidad de mostrar actividad sinérgica con un antibiótico que tenga actividad sobre la pared celular de los enterococos. Los enterococos obtenidos de infecciones graves deben ser sometidos a pruebas de sensibilidad para identificar resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos (MIC > 500 μg/ml en cuanto a gentamicina y > 1000 μg/ml en lo que toca a estreptomicina, en caldos de cultivo) para anticipar la eficacia terapéutica.

C. Resistencia a la vancomicina

El glucopéptido vancomicina es el principal fármaco alternativo a una penicilina (más un aminoglucósido) para tratar las infecciones enterocócicas. En Estados Unidos, los enterococos que son resistentes a la vancomicina han aumentado en frecuencia. Estos enterococos no son sinérgicamente susceptibles a la vancomicina más un aminoglucósido. La resistencia a la vancomicina ha sido muy frecuente en el caso de *E. faecium*, pero también ocurre en cepas de *E. faecalis* resistentes a la vancomicina.

Hay múltiples **fenotipos de resistencia a la vancomicina**. El fenotipo VanA se manifiesta por una gran resistencia inducible a la vancomicina y a la teicoplanina. Los fenotipos VanB son induciblemente resistentes a la vancomicina pero son susceptibles a la teicoplanina. Las cepas VanC tienen una resistencia intermedia a moderada a la vancomicina. VanC es constitutivo en las especies aisladas con menos frecuencia, *Enterococcus gallinarum* (VanC-1) y *Enterococcus casseliflavus* (VanC-2/VanC-3). El fenotipo VanD se manifiesta por resistencia moderada a la vancomicina y resistencia leve o sensibilidad a la teicoplanina. El fenotipo VanE se clasifica como el generador de resistencia de bajo nivel a la vancomicina y susceptibilidad a la teicoplanina. Las cepas VanG y VanL (por lo común *E. faecalis*) muestran un bajo nivel de resistencia a la vancomicina y son susceptibles a la teicoplanina.

La teicoplanina es un glucopéptido que tiene muchas semejanzas con la vancomicina. Se comercializa en Europa pero no en Estados Unidos. Tiene importancia en la investigación de la resistencia de los enterococos a la vancomicina.

La vancomicina y la teicoplanina interfieren en la síntesis de la pared celular de bacterias grampositivas al interactuar con el grupo d-alanil-d-alanina (d-Ala-d-Ala) de las cadenas pentapeptídicas de precursores de peptidoglucano. El determinante de la resistencia a la vancomicina mejor estudiado es el operón VanA. Es un sistema de genes empacados en un plásmido autotransferible que contiene un transposón íntimamente relacionado con Tn*1546* (figura 14-5). Hay dos marcos de lectura abiertos que codifican la síntesis de transposasa y resolvasa; los siete genes restantes codifican la resistencia a la vancomicina y las proteínas accesorias. Los genes *vanR* y *vanS* son sistemas reguladores de dos componentes sensibles a la presencia de vancomicina o teicoplanina en el medio ambiente. Se necesitan los genes *vanH*, *vanA* y *vanX* para la resistencia a la vancomicina. *VanH* y *vanA* codifican la síntesis de proteínas que generan la producción del depsipéptido (d-Ala-d-lactato) en lugar del péptido normal (d-Ala-d-Ala). El depsipéptido, cuando se une al UDP-muramil-triopéptido, forma un precursor pentapeptídico al cual no se unirán la vancomicina ni la teicoplanina. *VanX* codifica una dipeptidasa que agota el dipéptido d-Ala-d-Ala normal que se encuentra en el medio ambiente. *VanY* y *vanZ* no son esenciales para la resistencia a la vancomicina. *VanY* codifica una carboxipeptidasa que desdobla la d-Ala terminal del pentapéptido, agotando cualquier pentapéptido funcional en el medio ambiente que se pudiera haber sintetizado por el proceso normal de construcción de la pared celular. No se ha aclarado la función de *vanZ*.

En forma similar a lo que ocurre con *vanA, vanB y vanD* codifican d-Ala-d-Lac, pero *vanC* y *vanE* codifican d-Ala-d-Ser.

Los enterococos resistentes a la vancomicina suelen poseer plásmidos que les confieren resistencia a la ampicilina y los aminoglucósidos, y por esa razón se utilizan para tratar las infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina (VRE, *vancomycin-resistant enterococci*) fármacos nuevos como daptomicina, linezolida, quinupristina-dalfopristina y tigeciclina (entre otros) (capítulo 28).

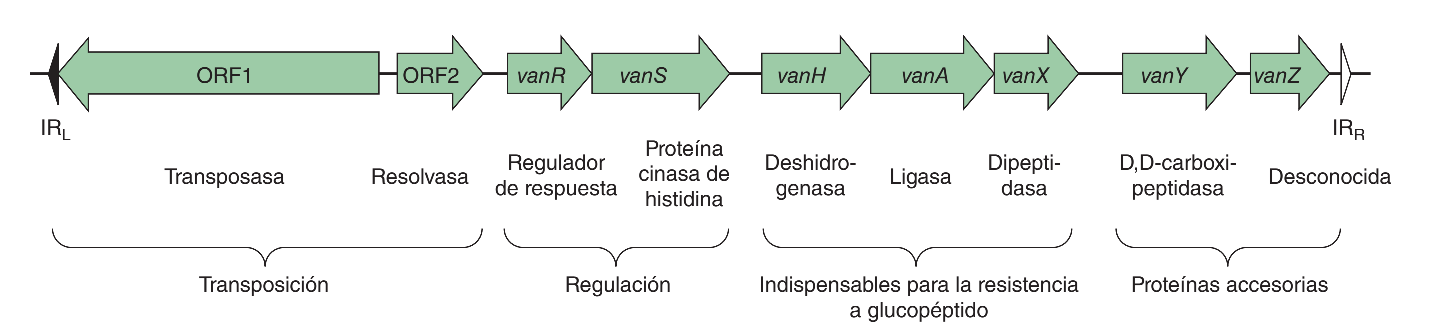


FIGURA 14-5 Mapa esquemático de la transposición Tn*1546* de *Enterococcus faecium* que codifica la resistencia a la vancomicina. IR_L e IR_R indican las repeticiones del transposón invertidas a la izquierda y a la derecha, respectivamente. (Adaptada y reproducida con autorización de Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrobs Agent Chemother* 1993;37:1563.)

CUADRO 14-2 Cocos y cocobacilos grampositivos no estreptocócicos catalasa negativos que se detectan con más frecuencia

Género[a]	Catalasa	Tinción de Gram	Susceptibilidad a la vancomicina	Comentario
Abiotrophia[b] (estreptococo nutricionalmente variable)	Negativo	Cocos en pares, cadenas cortas	Susceptible	Microflora normal de la cavidad oral; se aísla en casos de endocarditis
Aerococcus	Negativo a positivo débil	Cocos en tétradas y racimos	Susceptible	En ocasiones se aíslan microorganismos ambientales en sangre, orina o zonas estériles
Enterococcus faecalis (y otros enterococos)	D	Ninguna, α raramente β	Algunos son resistentes, sobre todo *Enterococcus faecium*	Absceso abdominal, infección de vías urinarias, endocarditis
Gemella	Negativo	Cocos en pares, tétradas, racimos y cadenas cortas	Susceptible	Decolora fácilmente y puede tener el aspecto de gramnegativo, se desarrolla con lentitud (48 h); parte de la microflora humana normal; a veces se aísla de la sangre y de zonas estériles
Granulicatella[b] (estreptococo nutricionalmente variable)	Negativo	Cocos en cadenas, racimos	Susceptible	Microflora normal de la cavidad oral; se aísla de casos de endocarditis
Leuconostoc	Negativo	Cocos en pares y cadenas; cocobacilos, bastones	Resistente	Microorganismos ambientales; tienen aspecto de enterococos en agar sangre; se aísla de una gran variedad de infecciones
Pediococcus	Negativo	Cocos en pares, tétradas y racimos	Resistente	Presente en productos alimenticios y heces humanas; a veces se aísla de la sangre y de abscesos
Lactobacillus	Negativo	Cocobacilos, bastones en pares y cadenas	Resistente (90%)	Anaerobios aerotolerantes por lo general se clasifican como bacilos, microflora vaginal normal; a veces se detecta en infecciones profundas

[a] Otros géneros en los cuales son esporádicas o infrecuentes las cepas provenientes de seres humanos: *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Ignavigranum*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

[b] Necesita piridoxal para desarrollarse.

D. Resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol

Los enterococos a menudo muestran sensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) en las pruebas *in vitro*, pero los fármacos no son eficaces para tratar las infecciones. Esta discrepancia se debe a que los enterococos pueden utilizar folatos exógenos disponibles *in vivo* y, por lo tanto, evaden la inhibición provocada por los fármacos.

OTROS COCOS GRAMPOSITIVOS CATALASA NEGATIVOS

Hay cocos o cocobacilos grampositivos no estreptocócicos que causan enfermedad con frecuencia creciente (cuadro 14-2). Estos microorganismos tienen muchas características de multiplicación y morfológicas parecidas a los estreptococos viridans. Pueden ser α hemolíticos o no hemolíticos. La mayor parte de ellos es catalasa negativo, y otros pueden ser catalasa positivos débiles. *Pediococcus* y *Leuconostoc* son los géneros cuyos miembros son **resistentes a la vancomicina**. Los lactobacilos son anaerobios que pueden ser aerotolerantes y α hemolíticos, y a veces forman variantes cocobacilares similares a los estreptococos viridans. La mayor parte de los **lactobacilos** (80 a 90%) son resistentes a la vancomicina. Otros microorganismos que a veces producen enfermedad y deben diferenciarse de los estreptococos y los enterococos son *Lactococcus*, *Aerococcus* y *Gemella*, géneros que con mucha frecuencia son **sensibles a la vancomicina**. *Rothia mucilaginosa* se consideraba antes un estafilococo, pero es catalasa negativo; las colonias muestran una adherencia clara al agar.

Verificación de conceptos

- Los estreptococos viridans y los enterococos son parte de la microbiota normal de la boca y el tubo digestivo de seres humanos, pero a veces ocasionan infecciones graves como bacteriemia y endocarditis en algunas situaciones.
- *S. pneumoniae* es α hemolítico; es susceptible a la optoquina y es virulento en gran medida por su cápsula de polisacárido que inhibe la fagocitosis.
- *S. pneumoniae* es la causa principal de neumonía extrahospitalaria, pero también se disemina por el torrente sanguíneo hasta llegar al sistema nervioso central. La enfermedad invasora se puede evitar con la vacuna de polisacáridos 23-valente (adultos) y la vacuna de conjugado 13-valente (niños). En algunas regiones geográficas ha surgido el problema de la resistencia a fármacos.
- Los enterococos tienen como singularidad la de poseer diversos determinantes de resistencia que han evolucionado y que incluyen agentes β-lactámicos, glucopéptidos

y aminoglucósidos, entre otros. Fármacos nuevos como la linezolida se utilizan para tratar infecciones por VRE (enterococos resistentes a vancomicina). Los microorganismos de esta categoría intervienen decisivamente en infecciones nosocomiales.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 48 años de edad ingresa al hospital a causa de estupor. Está descuidado y es indigente, vive en un campamento con otras personas necesitadas que llamaron a las autoridades cuando no pudieron despertarlo con facilidad. Su temperatura es de 38.5 °C y su presión arterial es de 125/80 mmHg. Gime cuando se intenta despertarlo. Tiene signos de Kernig y Brudzinski positivos, lo que indica irritación meníngea. En la exploración física y las radiografías torácicas se observan signos de consolidación del lóbulo pulmonar inferior izquierdo. Un aspirado endotraqueal arroja un esputo de color herrumbroso. El análisis de un frotis del esputo teñido con Gram muestra numerosos polimorfonucleares y numerosos diplococos grampositivos en forma de lanceta. En la punción lumbar, el líquido cefalorraquídeo es turbio y tiene una cifra de leucocitos de 570/μl con 95% de polimorfonucleares. La tinción de Gram muestra múltiples diplococos grampositivos. Con base en esta información, el posible diagnóstico es
   (A) Neumonía y meningitis por *Staphylococcus aureus*
   (B) Neumonía y meningitis por *Streptococcus pyogenes*
   (C) Neumonía y meningitis por *Streptococcus pneumoniae*
   (D) Neumonía y meningitis por *Enterococcus faecalis*
   (E) Neumonía y meningitis por *Neisseria meningitidis*
2. El paciente de la pregunta 1 comenzó con antibioticoterapia con actividad contra múltiples microorganismos posibles. Después, el cultivo del esputo y del líquido cefalorraquídeo presentó diplococos grampositivos con una concentración mínima inhibidora (MIC) para la penicilina G de > 2 μg/ml. El fármaco de elección en este paciente hasta que se puedan realizar pruebas de susceptibilidad es
   (A) Penicilina G
   (B) Nafcilina
   (C) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Gentamicina
   (E) Vancomicina
3. Esta infección (pregunta 1) podría haberse evitado con
   (A) Penicilina benzatínica intramuscular profiláctica cada tres semanas
   (B) Vacuna de polisacárido capsular 23-valente
   (C) Vacuna contra serogrupos A, C, Y, así como polisacárido capsular W135
   (D) Vacuna de polisacárido capsular con polirribosilribitol ligado en forma covalente a una proteína
   (E) Penicilina por vía oral, dos veces al día
4. ¿La patogenia del microorganismo que produjo la infección (pregunta 1) incluye cuál de las siguientes?
   (A) Invasión de las células que revisten los alvéolos y entrada en la circulación de las vénulas pulmonares
   (B) Resistencia a la fagocitosis mediada por proteína M
   (C) Migración a los ganglios linfáticos mediastínicos donde ocurre la hemorragia
   (D) Lisis de la vacuola fagocítica y liberación de su contenido a la circulación.
   (E) Inhibición de la fagocitosis por acción de la cápsula con polisacárido.
5. Se recomienda administrar la vacuna del conjugado de proteína polisacárida capsular 13-valente contra el patógeno de la pregunta 1 en
   (A) Niños hasta la edad de 18 años y para adultos escogidos.
   (B) Sólo tras el contacto con un paciente con una enfermedad causada por el microorganismo
   (C) En todos los niños de dos a 23 meses de edad además de niños mayores de esa edad seleccionados y adultos con enfermedades en que hay inmunodepresión.
   (D) En niños de 24 a 72 meses
   (E) En todos los grupos de edad mayores de dos meses
6. Un niño de ocho años presenta una faringitis grave. En la exploración física se observa un exudado blanco grisáceo en las amígdalas y la faringe. El diagnóstico diferencial comprende una infección por estreptococos del grupo A, infección por virus de Epstein-Barr (EBV), infección grave por adenovirus y difteria. (También se incluiría la faringitis por *Neisseria gonorrhoeae*, pero el paciente no ha sufrido abuso sexual.) La causa de la faringitis del niño muy probablemente es
   (A) Un coco grampositivo catalasa negativo que crece en cadenas
   (B) Un virus RNA monocatenario de polaridad positiva
   (C) Un coco grampositivo catalasa positivo que se desarrolla en racimos
   (D) Un bacilo grampositivo catalasa negativo
   (E) Un virus de RNA bicatenario
7. Un mecanismo causante de la patogenia de la enfermedad del niño (pregunta 6) es
   (A) Un incremento neto del monofosfato de adenosina cíclico intracelular
   (B) Acción de la proteína M
   (C) Acción de la proteasa de IgA1
   (D) Acción de la enterotoxina A
   (E) Inactivación del factor de elongación 2
8. Una mujer de 40 años de edad presenta cefalea intensa y fiebre. Su exploración neurológica es normal. Una gammagrafía cerebral muestra una lesión anular realzada en el hemisferio izquierdo. En la intervención quirúrgica, se encuentra un absceso cerebral. El cultivo del líquido del absceso desarrolla un bacilo anaerobio gramnegativo (*Bacteroides fragilis*) y un coco grampositivo catalasa negativo que en la tinción de Gram tiene una disposición en pares y cadenas. El microorganismo es hemolítico β y forma colonias muy pequeñas (< 0.5 mm de diámetro). Una persona pensó que tenía olor a caramelo. Se aglutina con antisueros del grupo F. El microorganismo más probable es
   (A) *Streptococcus pyogenes* (grupo A)
   (B) *Enterococcus faecalis* (grupo D)
   (C) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
   (D) Grupo de *Streptococcus anginosus*
   (E) *Staphylococcus aureus*
9. El método más importante para clasificar y determinar las especies de los estreptococos es
   (A) Aglutinación con antisueros contra la sustancia específica del grupo de la pared celular
   (B) Pruebas bioquímicas
   (C) Propiedades hemolíticas (α, β, no hemolíticas)
   (D) Reacción de hinchazón (tumefacción) capsular
   (E) Todos los anteriores
10. Una niña de ocho años de edad presenta corea de Sydenham ("mal de San Vito") con tics faciales incoordinados y movimientos involuntarios de sus extremidades, que son muy indicativos de una fiebre reumática aguda. No tiene ninguna otra manifestación primaria de fiebre reumática (carditis, artritis, nódulos

subcutáneos, exantema). El cultivo faríngeo de la paciente es negativo para *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A). Sin embargo, ella, su hermano y su madre dos meses antes tuvieron faringitis. Si resultara positiva la siguiente prueba indicaría infecciones recientes por *Streptococcus pyogenes*

(A) Título de anticuerpos antiestreptolisina S
(B) Reacción en cadena de la polimerasa para los anticuerpos contra proteína M
(C) Título de anticuerpo ASO
(D) Hidrólisis de esculina
(E) Título de anticuerpo antiácido hialurónico

11. Todas las siguientes aseveraciones en relación con la cápsula de ácido hialurónico de *Streptococcus pyogenes* son correctas, *excepto*:

(A) Es causa del aspecto mucoide de las colonias *in vitro*
(B) Es antifagocítica
(C) Se une a CD44 en células epiteliales humanas
(D) Es un factor de virulencia importante
(E) En la actualidad se dispone de una vacuna contra la cápsula

12. Los enterococos pueden distinguirse de los estreptococos no enterocócicos del grupo D por cuál de las siguientes características

(A) Hemólisis γ
(B) Hidrólisis de esculina
(C) Crecimiento en NaCl al 6.5%
(D) Crecimiento en presencia de bilis
(E) Características morfológicas en la tinción de Gram

13. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno al grupo de *Streptococcus bovis* es correcta?

(A) Poseen antígeno de Lancefield del grupo D
(B) Algunas cepas son resistentes a la vancomicina
(C) Las infecciones causadas por estos microorganismos son benignas
(D) Todas las subespecies son PYR positivas
(E) Todas las subespecies son hemolíticas β

14. ¿Cuál de los siguientes géneros necesita piridoxal para desarrollarse?

(A) *Aerococcus*
(B) *Granulicatella*
(C) *Enterococcus*
(D) *Leuconostoc*
(E) *Pediococcus*

15. ¿Cuál de los siguientes géneros suele ser resistente a la vancomicina?

(A) *Aerococcus*
(B) *Gemella*
(C) *Pediococcus*
(D) *Streptococcus*
(E) *Abiotrophia*

Respuestas

1. C	5. C	9. E	13. A
2. E	6. A	10. C	14. B
3. B	7. B	11. E	15. C
4. E	8. D	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Arias CA, Murray BE: *Enterococcus* species, *Streptococcus gallolyticus* group, and *Leuconostoc* species. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser ME (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Bryant AE, Stevens DL: *Streptococcus pyogenes*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser ME (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Cunningham MW: Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. *Adv Exp Med Biol* 2008;609:29.

Edwards MS, Baker CJ: *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus). En: Bennett JE, Dolin R, Blaser ME (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Paradiso PR. Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children. *Clin Infect Dis* 2011;52:1241.

Ruoff KL, Christensen JJ: *Aerococcus, Abiotrophia*, and other catalase-negative gram positive cocci. En Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015.

Schlegel L, Grimont F, Ageron E, *et al.*: Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003;3:631-645.

Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A: Invasive group B streptococcal disease in non-pregnant adults. *Infection* 2008;36:100.

Shulman ST, Bisno AL: Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: Rheumatic fever and glomerulonephritis. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser ME (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Spellberg B, Brandt C. *Streptococcus*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015.

Stollerman GH, Dale JB: The importance of the group A streptococcus capsule in the pathogenesis of human infections: A historical perspective. *Clin Infect Dis* 2008;46:1038.

Teixeira LM, *et al.*: *Enterococcus*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, et al (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015.

Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, *et al.*: Prevention of infective endocarditis: Guidelines from the American Heart Association: A guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation* 2007;116:1736-1754.

Bacilos gramnegativos entéricos (*Enterobacteriaceae*)

CAPÍTULO

15

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo heterogéneo y extenso de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales. La familia comprende muchos géneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros más). Algunos microorganismos entéricos como *Escherichia coli* son parte de la microbiota normal y en contadas ocasiones originan enfermedades, pero otros como las salmonelas y las shigelas siempre son patógenos para los seres humanos. La familia *Enterobacteriaceae* son bacilos anaerobios o aerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas y otros factores de virulencia. Las enterobacterias, los bacilos gramnegativos entéricos y las bacterias entéricas son términos que se utilizan en este capítulo, pero estas bacterias también se denominan coliformes.

CLASIFICACIÓN

La familia *Enterobacteriaceae* son el grupo más frecuente de bacilos gramnegativos que se cultivan en el laboratorio clínico y junto con los estafilococos y los estreptococos son las bacterias que más a menudo causan enfermedades. La taxonomía de las *Enterobacteriaceae* es compleja y rápidamente cambiante desde el advenimiento de técnicas que miden la distancia evolutiva, por ejemplo, la hibridación de ácido nucleico y la secuenciación de ácido nucleico. Según la base de datos de la National Library of Medicine's Internet Taxonomy (disponible en http://www.ncbi.nlm.nih.gov//Taxonomy//Browser/wwwtax.chl?id=543) se han definido 63 géneros; sin embargo, las especies clínicamente importantes de la familia *Enterobacteriaceae* comprenden 20 a 25 miembros, en tanto que otras especies se encuentran con menor frecuencia. En este capítulo se minimizarán los refinamientos taxonómicos y en general se utilizarán los nombres que suelen usarse en la bibliografía médica. En los capítulos 33, 37 y 38 de Jorgensen *et al.*, 2015 se describe una estrategia completa para la identificación de *Enterobacteriaceae*.

La familia *Enterobacteriaceae* tiene las siguientes características: son bacilos gramnegativos, ya sea móviles con flagelos perítricos o no móviles; se multiplican en medios con peptona o extracto de carne sin que se añada cloruro de sodio u otros complementos; se multiplican bien en agar de MacConkey; proliferan en medios aerobios y anaerobios (son anaerobios facultativos); fermentan en vez de oxidar glucosa, a menudo produciendo gas; son catalasa positiva, oxidasa negativa (excepto *Plesiomonas*) y reducen nitrato a nitrito; y tienen un contenido de DNA de G + C de 39 a 59%. Pueden diferenciarse a nivel de especie por un conjunto grande de pruebas bioquímicas. En Estados Unidos los estuches preparados comercialmente o sistemas automatizados tienen un amplio uso para este propósito. Sin embargo, otros metodos los están reemplazando en gran medida. Es posible que la práctica de la espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS; *matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectroscopy*) para identificar cepas en cultivos, pronto sustituya a los conjuntos más tradicionales de reactivos bioquímicos utilizados en muchos de los laboratorios de microbiología clínica; esta nueva tecnología al parecer es muy útil para identificar especies de la familia *Enterobacteriaceae* frecuentes que aparecen en el material clínico, salvo especies de *Shigella*. Con dicha tecnología no se puede diferenciar entre esta última y *E. coli*.

Los principales grupos de *Enterobacteriaceae* se describen y se analizan brevemente en los siguientes párrafos. En este capítulo se describirán más adelante por separado las características específicas de salmonelas, shigelas y otros bacilos gramnegativos entéricos que tienen importancia médica y las enfermedades que causan.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La familia *Enterobacteriaceae* son bacilos gramnegativos cortos (figura 15-1A). Se observa una morfología característica en la multiplicación en medios sólidos *in vitro*, pero las características morfológicas son muy variables en especímenes clínicos. Las cápsulas son de gran tamaño y regulares en *Klebsiella*, menos en *Enterobacter* e infrecuentes en las demás especies.

B. Cultivo

E. coli y la mayor parte de las otras bacterias entéricas forman colonias circulares, convexas y lisas con bordes distintivos. Las colonias de *Enterobacter* son similares pero un poco más mucoides. Las colonias de *Klebsiella* son grandes y muy mucoides y tienden a experimentar coalescencia con la incubación prolongada. Las salmonelas y las shigelas producen colonias similares a *E. coli* pero no fermentan lactosa. Algunas cepas de *E. coli* producen hemólisis en agar sangre.

C. Características de desarrollo

Se utilizan los patrones de fermentación de hidratos de carbono y la actividad de las descarboxilasas de aminoácidos y otras enzimas para la diferenciación bioquímica. Algunas pruebas, por ejemplo, la producción de indol a partir de triptófano, suelen utilizarse en sistemas de identificación rápida, en tanto que

apter 15_Carroll_4R.indd 231 14/04/16

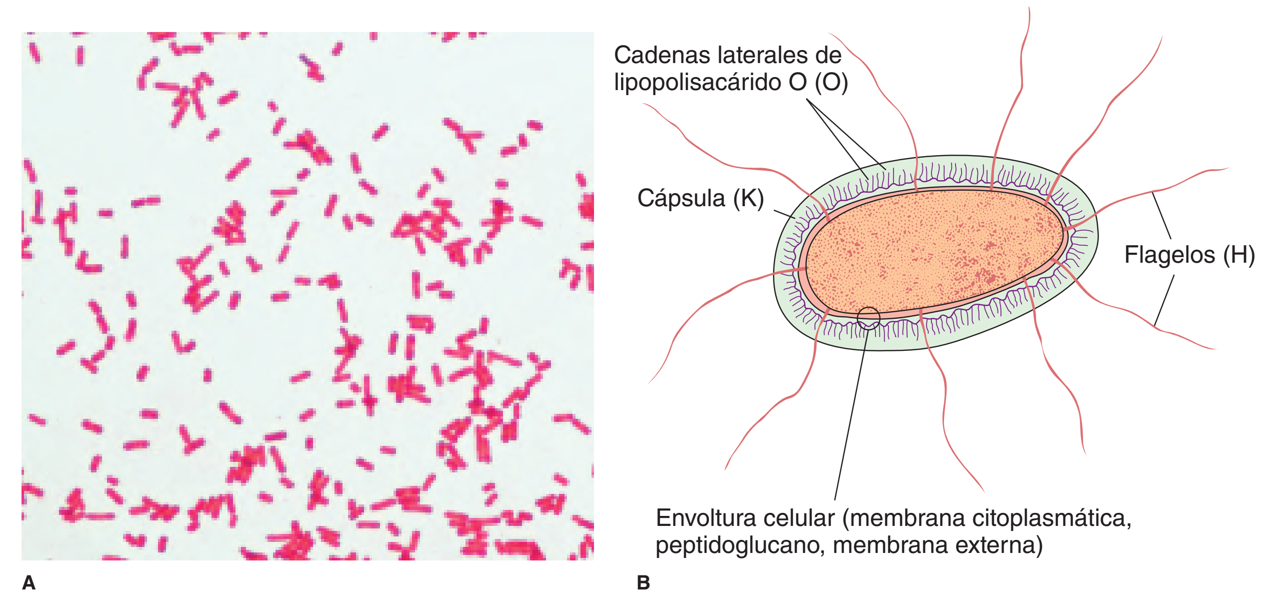


FIGURA 15-1 **A:** Tinción de Gram de *Escherichia coli*. Aumento original × 1000. (Cortesía de H. Reyes.) **B:** Estructura antigénica de las *Enterobacteriaceae*.

otras, por ejemplo, la reacción de Voges-Proskauer (producción de acetilmetilcarbinol a partir de glucosa) se utilizan con menos frecuencia. El cultivo en medios "diferenciales" que contienen colorantes especiales e hidratos de carbono (p. ej., eosina-azul de metileno [EMB, *eosin-methylene-blue*], de MacConkey o medio de desoxicolato) distingue a las colonias que fermentan lactosa (de color) de las que no fermentan lactosa (incoloras) y permite la identificación presuntiva rápida de las bacterias entéricas (cuadro 15-1).

Se han ideado muchos medios complejos para tratar de identificar las bacterias entéricas. Uno de estos medios es el agar de hierro con triple azúcar (TSI, *triple sugar iron*), que a menudo se utiliza para ayudar a diferenciar las salmonelas y las shigelas de otros bacilos gramnegativos entéricos en los coprocultivos. El medio contiene glucosa al 0.1%, sacarosa al 1%, lactosa al 1%, sulfato ferroso (para la detección de la producción de H_2S), extractos de tejido (sustrato de crecimiento con proteínas) y un indicador de pH (rojo fenol). Se vierte en un tubo de ensayo de manera que se produzca una porción inclinada con un extremo profundo y se siembra puncionando el inóculo para el desarrollo bacteriano en el extremo profundo. Si sólo se fermenta glucosa, la porción inclinada y el extremo profundo al principio adoptan un color amarillo por la pequeña cantidad de ácido que se produce; a medida que los productos de la fermentación son oxidados después a CO_2 y H_2O y son liberados de la parte inclinada y conforme continúa la descarboxilación oxidativa de las proteínas con la formación de aminas, la parte inclinada se vuelve alcalina (roja). Si se fermenta lactosa o sacarosa, se produce tanto ácido que la parte inclinada y el extremo profundo se mantienen amarillos (ácidos). Las salmonelas y las shigelas suelen producir una parte inclinada alcalina y un extremo profundo ácido. Aunque *Proteus, Providencia* y *Morganella* producen una porción inclinada alcalina y un extremo profundo ácido, se pueden identificar por su formación rápida de color rojo en el medio de urea agar base (Christensen). Los microorganismos que producen ácido en la parte inclinada y ácido y gas (burbujas) en el extremo profundo o en el fondo son otras bacterias entéricas.

CUADRO 15-1 **Identificación rápida y presuntiva de bacterias entéricas gramnegativas**

Lactosa fermentada con rapidez
Escherichia coli: brillo metálico en medios diferenciales; colonias móviles; colonias planas no viscosas
Enterobacter aerogenes: colonias elevadas, sin brillo metálico; a menudo móviles; proliferación más viscosa
Enterobacter cloacae: similar a *Enterobacter aerogenes*
Klebsiella pneumoniae: multiplicación muy viscosa, mucoide; inmóviles
Lactosa fermentada con lentitud
Edwardsiella, Serratia, Citrobacter, Arizona, Providencia, Erwinia
Lactosa no fermentada
Especies de *Shigella:* inmóviles; sin producción de gas a partir de dextrosa
Especies de *Salmonella:* móviles; formación de ácido y por lo general gas a partir de dextrosa
Especies de *Proteus:* "proliferación" en agar; urea rápidamente hidrolizada (olor a amoniaco)
Especies de *Pseudomonas* (capítulo 16): pigmentos solubles, azul verdoso y fluorescente; olor dulce

1. *Escherichia.* *E. coli* suele producir pruebas con positividad para indol, lisina descarboxilasa y fermentación de manitol y produce gas a partir de glucosa. Una cepa de la orina se puede identificar rápidamente como *E. coli* por su hemólisis en agar sangre, su morfología de colonia característica con un "brillo" iridiscente en medios diferenciales como agar EMB y una prueba de indol positiva. Más de 90% de las cepas de *E. coli* tiene positividad para glucuronidasa β si se utiliza el sustrato 4-metilumbeliferil-β-glucurónido (MUG). Las cepas de otros lugares anatómicos además de la orina, con propiedades características (pruebas de oxidasa negativa) a menudo se pueden confirmar como *E. coli* con una prueba de MUG positiva.

2. Grupo de *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*. Las bacterias del género *Klebsiella* muestran desarrollo colonial mucoide, cápsulas de polisacárido de gran tamaño y falta de motilidad, y por lo general producen pruebas positivas para lisina descarboxilasa y citrato. La mayor parte del género *Enterobacter* produce pruebas positivas para motilidad, citrato y descarboxilasa de ornitina y produce gas a partir de glucosa. *Enterobacter aerogenes* tiene cápsulas pequeñas. Algunas especies de *Enterobacter* se han reclasificado dentro del género *Cronobacter*. *Serratia* produce DNasa, lipasa y gelatinasa. *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* por lo general producen reacciones de Voges-Proskauer positivas.

3. Grupo de *Proteus-Morganella-Providencia*. Los miembros de este grupo desaminan fenilalanina, son móviles, se multiplican en medio de cianuro de potasio (KCN) y fermentan xilosa. Las bacterias del género *Proteus* se mueven muy activamente por medio de flagelos perítricos, lo que da como resultado un "enjambre" en medios sólidos a menos que el enjambre se inhiba por sustancias químicas, por ejemplo, feniletil alcohol o medio de CLED (deficiente en cistina-lactosa-electrólitos). Las bacterias del género *Proteus* y *Morganella morganii* producen ureasa, en tanto que las bacterias del género *Providencia* no suelen producirla. El grupo *Proteus-Providencia* fermenta lactosa con mucha lentitud o no la fermenta.

4. *Citrobacter*. Estas bacterias suelen producir citrato y difieren de las salmonelas en que no descarboxilan lisina. Si es que fermentan lactosa lo hacen con gran lentitud.

5. *Shigella*. Las shigelas son inmóviles y por lo general no fermentan lactosa pero sí fermentan otros hidratos de carbono, produciendo ácido pero no gas. No producen H_2S. Las cuatro bacterias del género *Shigella* están muy relacionadas con *E. coli*. Muchas comparten antígenos comunes entre sí y con otras bacterias entéricas (p. ej., *Hafnia alvei* y *Plesiomonas shigelloides*).

6. *Salmonella*. Las salmonelas son bacilos móviles que de manera característica fermentan glucosa y manosa sin producir gas pero no fermentan lactosa ni sacarosa. La mayor parte de las salmonelas producen H_2S. A menudo son patógenas para el ser humano o los animales cuando se ingieren. Los microorganismos originalmente descritos en el género *Arizona* se incluyen como subespecies del grupo *Salmonella*.

7. Otras *Enterobacteriaceae*. Las bacterias del género *Yersinia* se describen en el capítulo 19. En ocasiones se detectan otros géneros en infecciones humanas como *Cronobacter, Edwardsiella* y *Ewingella*, *Hafnia, Cedecea, Plesiomonas* y *Kluyvera*.

Estructura antigénica

La familia *Enterobacteriaceae* tiene una estructura antigénica compleja. Se clasifican en más de 150 diferentes antígenos somáticos termoestables O (lipopolisacáridos), más de 100 antígenos K (capsulares) termolábiles y más de 50 antígenos H (flagelares) (figura 15-1B). En el serotipo Typhi de *Salmonella*, los antígenos capsulares reciben el nombre de antígenos Vi. La clasificación antigénica de Enterobacteriaceae a menudo indica la presencia de cada antígeno específico; por ejemplo, la fórmula antigénica de una *E. coli* puede ser O55:K5:H21.

Los **antígenos O** son la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O específicos contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol y por lo general se detectan mediante la aglutinación bacteriana. Los anticuerpos a los antígenos O son predominantemente IgM.

Si bien cada género de la familia *Enterobacteriaceae* se relaciona con grupos O específicos, un solo microorganismo puede portar varios antígenos O. Por consiguiente, la mayor parte de las shigelas comparten uno o más antígenos O con *E. coli*. Esta última puede producir reacción cruzada con algunas especies de los géneros *Providencia, Klebsiella* y *Salmonella*. En ocasiones, los antígenos O se relacionan con enfermedades humanas específicas (por ejemplo, tipos O específicos de *E. coli* se detectan en infecciones diarreicas y del sistema urinario).

Los **antígenos K** son externos a los antígenos O en algunas *Enterobacteriaceae* pero no en todas. Algunos son polisacáridos, y comprenden los antígenos K de *E. coli*; otros son proteínas. Los antígenos K pueden interferir en la aglutinación por antisuero O y relacionarse con virulencia (p. ej., las cepas de *E. coli* productoras de antígeno K1 sobresalen en la meningitis neonatal y los antígenos K de *E. coli* producen la adherencia de las bacterias a las células epiteliales antes de la invasión del tubo digestivo o del sistema urinario).

Las klebsielas forman grandes cápsulas que constan de polisacáridos (antígenos K) que recubren los antígenos somáticos (O o H) y se pueden identificar mediante las pruebas de hinchazón capsular con antisueros específicos. Las infecciones del sistema respiratorio en seres humanos son causadas sobre todo por los tipos capsulares 1 y 2; las del sistema urinario por los tipos 8, 9, 10 y 24.

Los **antígenos H** están situados en los flagelos, y son desnaturalizados o eliminados mediante calor o alcohol. Se conservan mediante el tratamiento de las variantes bacterianas móviles con formalina. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos anti-H, principalmente IgG. Los determinantes en los antígenos H dependen de la secuencia de aminoácido en la proteína flagelar (flagelina). Dentro de un solo serotipo, puede haber antígenos flagelares en una o en las dos formas, denominadas fase 1 (tradicionalmente designadas por letras minúsculas) y fase 2 (tradicionalmente designadas por numerales arábigos), según se muestra en el cuadro 15-3. El microorganismo tiende a cambiar de una fase a otra; esto se denomina variación de fase. Los antígenos H en la superficie bacteriana pueden interferir con la aglutinación por anticuerpos contra antígeno O.

Existen muchos ejemplos de estructuras antigénicas imbricadas entre *Enterobacteriaceae* y otras bacterias. La mayor parte de las *Enterobacteriaceae* comparte el antígeno O14 de *E. coli*. El polisacárido capsular tipo 2 de *Klebsiella* es muy similar al polisacárido de los neumococos tipo 2. Algunos antígenos K presentan reacción cruzada con polisacáridos capsulares de *Haemophilus influenzae* o *Neisseria meningitidis*. Por consiguiente, *E. coli* O75:K100:H5 puede activar la formación de anticuerpos que reaccionen con *H. influenzae* tipo b.

Toxinas y enzimas

La mayor parte de las bacterias gramnegativas posee lipopolisacáridos complejos en sus paredes celulares. Tales sustancias, endotoxinas de la envoltura celular (membrana citoplásmica, peptidoglucano, membrana externa) tienen diversos efectos fisiopatológicos que se resumen en el capítulo 9. Muchas bacterias entéricas gramnegativas también producen exotoxinas de importancia clínica. Algunas toxinas específicas se describen en las secciones subsiguientes.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR *ENTEROBACTERIACEAE* DIFERENTES A *SALMONELLA* Y *SHIGELLA*

Microorganismos causales

E. coli son miembros de la microbiota normal del intestino (capítulo 10). Otras bacterias entéricas (*Proteus, Enterobacter, Klebsiella, Morganella, Providencia, Citrobacter* y *Serratia*), también son parte de dicha microbiota intestinal normal pero su número es muchísimo menor que el de *E. coli*. Algunas bacterias entéricas aparecen en menor número como parte de la microbiota normal de la zona superior de vías respiratorias y genitales. En términos generales, las bacterias entéricas no ocasionan enfermedad y en los intestinos incluso contribuyen a su función y nutrición normales. Cuando se presentan infecciones clínicamente importantes suelen ser causadas por *E. coli*, pero las otras bacterias entéricas son causa de infecciones intrahospitalarias y a veces desencadenan infecciones adquiridas en la comunidad. Las bacterias se tornan patógenas sólo cuando alcanzan tejidos fuera de su sitio intestinal normal u otros sitios de microbiota normal menos comunes. Los lugares más frecuentes de infecciones de importancia clínica son el sistema urinario, las vías biliares y otras zonas en la cavidad abdominal, pero cualquier zona anatómica (p. ej., circulación sanguínea, glándula prostática, pulmón, hueso, meninges) puede ser el lugar afectado por la enfermedad. Algunas de las bacterias entéricas (p. ej., *Serratia marcescens, Enterobacter aerogenes*) son microorganismos patógenos oportunistas. Cuando las defensas normales del hospedador son inadecuadas, sobre todo en la lactancia o en la vejez, en las etapas terminales de otras enfermedades después de la inmunosupresión o en pacientes con catéteres venosos o sondas uretrales permanentes, pueden presentarse infecciones importantes circunscritas y las bacterias pueden llegar al torrente sanguíneo y producir septicemia.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de las infecciones por *E. coli* y las otras bacterias entéricas dependen del lugar de la infección y no se pueden distinguir por los síntomas o los signos de procesos causados por otras bacterias.

A. E. coli

1. Infección del sistema urinario. *E. coli* es la causa más frecuente de infección de las vías urinarias y contribuye a casi 90% de las infecciones primarias urinarias en mujeres jóvenes (capítulo 48). Los síntomas y signos consisten en polaquiuria, disuria, hematuria y piuria. El dolor en la fosa renal se relaciona con infección urinaria alta. Ninguno de estos síntomas o signos es específico de la infección por *E. coli*. La infección del sistema urinario puede ocasionar bacteriemia con signos clínicos de septicemia.

La mayor parte de las infecciones urinarias que afectan a la vejiga o al riñón en un hospedador sano son causadas por un pequeño número de tipos de antígeno O que han elaborado específicamente factores de virulencia que facilitan la colonización y las infecciones clínicas subsiguientes. Tales microorganismos se designan como *E. coli* uropatógena. Por lo general estos microorganismos producen hemolisina, que es citotóxica y facilita la invasión de los tejidos. Las cepas que producen pielonefritis expresan el antígeno K y elaboran fimbrias P que se unen al antígeno del grupo sanguíneo P.

En el último decenio ha surgido como un patógeno significativo un clon pandémico, *E. coli* O25b/ST131. Este microorganismo ha sido exitoso en gran medida como resultado de su adquisición de factores de resistencia mediados por plásmidos que codifican resistencia a antibiióicos β lactámicos (elaboración de β lactamasas de espectro amplificado), fluoroquinolonas y aminoglucósidos (véase la revisión de Johnson *et al*., 2010).

2. Enfermedades diarreicas relacionadas con *E. coli*. *E. coli* que produce diarrea es muy frecuente en todo el mundo. Estas *E. coli* se clasifican con base en sus características y propiedades de virulencia (véase el comentario más adelante), y cada grupo causa enfermedades por algún mecanismo diferente (como mínimo se han definido seis de ellos). Las propiedades de adherencia a las células epiteliales del intestino delgado o grueso son codificadas por genes presentes en los plásmidos. Asimismo, las toxinas a menudo son mediadas por plásmido o fago. Algunos aspectos clínicos de las enfermedades diarreicas se describen en el capítulo 48.

***E. coli* enteropatógena (EPEC)** es una causa importante de diarrea en los lactantes, sobre todo en los países en vías de desarrollo. EPEC se adhiere a las células de la mucosa del intestino delgado. Para que surja la patogenia se necesitan dos factores importantes que son la fimbria formadora de pilis codificada por un plásmido, como el factor de adherencia EPEC (EAF; *EPEC adherence factor*) y el islote de patogenia del locus cromosómico de borramiento del enterocito (LEE) que induce la adherencia estrecha que es característica de EPEC (fijación y borramiento). Después de la fijación desaparecen las microvellosidades (borramiento); se forman pedestales de actina filamentosa o estructuras caliciformes y en ocasiones penetra EPEC en las células mucosas. En las microfotografías electrónicas de lesiones del intestino delgado de las cuales se obtuvieron fragmentos de biopsia se identifican lesiones características. El resultado de la infección por EPEC en lactantes comprende la diarrea acuosa y grave; los vómitos y la fiebre que suele ceder por sí sola, pero a veces es duradera o crónica. La diarrea por EPEC se relaciona con múltiples serotipos específicos de *E. coli*. Se identifican las cepas por el antígeno O y a veces por la tipificación del antígeno H. Se puede realizar un modelo de infección de dos etapas en que se utilizan células HEp-2. Las pruebas para identificar EPEC se realizan en laboratorios de referencia. La duración de la diarrea por EPEC puede abreviarse y la diarrea crónica curarse con tratamiento antibiótico.

***E. coli* enterotoxígena (ETEC)** son una causa frecuente de “diarrea del viajero” y es una causa muy importante de diarrea

en niños menores de 5 años de países en vías de desarrollo. Los factores de colonización de ETEC (pili conocidos como antígenos del factor de colonización [CFAs; *colonization factor antigens*]) que son específicos de seres humanos inducen la adherencia de ETEC a células epiteliales del intestino delgado. Algunas cepas de ETEC producen una enterotoxina **termolábil** (LT) (peso molecular [MW] de 80 000) bajo el control genético de un plásmido y está relacionada con la toxina del cólera. Su subunidad B se une a GM_1, gangliósido en la membrana apical de los enterocitos y facilita la penetración de la subunidad A (peso molecular, 26 000), en la célula, y en ella esta última activa la adenililciclasa; lo anterior incrementa extraordinariamente la concentración local de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP; *cyclic adenosine monophosphate*), después de lo cual se activa una cascada compleja en que participa el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística. El resultado final es una hipersecreción intensa y duradera de agua y cloruros, e inhibición de la resorción de sodio. El interior del intestino muestra distensión por líquido y surgen hipermotilidad y diarrea que duran días. LT es antigénica y muestra reacción cruzada con la enterotoxina de *Vibrio cholerae*, que posee un mecanismo de acción idéntico. LT estimula la producción de anticuerpos neutralizantes en el suero (y tal vez en la superficie intestinal) de personas que estuvieron infectadas por la cepa enterotoxígena de *E. coli*. Las personas que residen en sitios en que prevalecen grandemente tales microorganismos (como el caso de algunos países en desarrollo) posiblemente posean anticuerpos y muestran menor propensión a presentar diarrea con la nueva exposición a *E. coli* productora de LT. Las técnicas de cuantificación de LT incluyen: 1) acumulación de líquido en el intestino de animales de laboratorio; 2) típicos cambios citológicos en cultivos de células ováricas de hámster chino u otras líneas celulares; 3) estimulación de la producción de esteroides en células tumorales suprarrenales cultivadas; 4) técnicas de unión e inmunológicas con antisueros estandarizados contra LT y 5) detección de los genes que codifican las toxinas; todos estos métodos se realizan solamente en laboratorios especializados.

Algunas cepas de ETEC producen la **enterotoxina termoestable** ST_a (peso molecular, 1500 a 4000), que está bajo el control genético de un grupo heterogéneo de plásmidos. ST_a activa a la guanilil ciclasa en las células epiteliales entéricas y estimula la secreción de líquido. Muchas cepas positivas para ST_a también producen LT. Las cepas con las dos toxinas causan diarrea más grave.

Los plásmidos portadores de los genes para las enterotoxinas (LT, ST) también pueden portar genes para los CFA que facilitan la adherencia de las cepas de *E. coli* en el epitelio intestinal. Los factores de colonización reconocidos ocurren con especial frecuencia en algunos serotipos. Determinados serotipos de ETEC se presentan en todo el mundo; otros tienen una distribución limitada reconocida. Es posible que casi cualquier *E. coli* pueda adquirir un plásmido que codifica las enterotoxinas. No hay ninguna relación definida de ETEC con cepas de EPEC que produzcan diarrea en los niños. Asimismo, no hay ninguna relación entre las cepas enterotoxígenas y las que pueden invadir células del epitelio intestinal.

Es muy recomendable la atención en la selección y el consumo de alimentos potencialmente contaminados con ETEC para tratar de evitar la diarrea del viajero. La profilaxis antimicrobiana puede ser eficaz pero es posible que cause incremento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos y no siempre debe recomendarse. Una vez que sobreviene diarrea, el tratamiento con antibióticos abrevia de manera eficaz su duración.

***E. coli* productora de toxina Shiga (STEC)** se denominan así por las toxinas citotóxicas que producen. Hay por lo menos dos formas antigénicas de la toxina designadas como toxina similar a Shiga 1 y toxina similar a Shiga 2. STEC se ha relacionado con diarrea leve no sanguinolenta, colitis hemorrágica, una forma grave de diarrea, y con el síndrome hemolítico urémico, una enfermedad que desencadena insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. La toxina semejante a Shiga 1 es idéntica a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1 y la toxina semejante a Shiga 2 también posee muchas propiedades similares a la toxina mencionada; sin embargo, las dos toxinas son diferentes desde los puntos de vista antigénico y genético. Una dosis infecciosa baja (< 200 CFU) se asocia con infección. De los más de 150 serotipos de *E. coli* que producen toxina Shiga, O157:H7 es la más común y la que se identifica con mayor facilidad en las muestras de seres humanos. STEC O157:H7 no consume sorbitol, lo que la diferencia de otras cepas de *E. coli* y es negativa (colonias transparentes) en el agar de MacConkey con sorbitol (en él se usa sorbitol en vez de lactosa); las cepas O157:H7 también muestran negatividad en las pruebas de MUG (consúltese párrafos anteriores). Muchos de los serotipos que no corresponden a O157 pueden ser sorbitol-positivos si se multiplican en cultivos. Los antisueros específicos se utilizan para identificar las cepas O157:H7. En muchos laboratorios se practican pruebas para detectar las dos toxinas de Shiga y para ello se utilizan enzimoinmunoensayos comerciales (EIAs; *enzyme immunoassays*). Otros métodos sensibles de cuantificación incluyen el método de cultivo celular con citotoxina utilizando células Vero y reacción en cadena de la polimerasa para la detección directa de genes de toxina, directamente de las muestras de heces. Es posible evitar muchos casos de colitis hemorrágica y sus complicaciones por medio de la cocción completa de carne molida de res y evitar el uso de productos no pasteurizados, como la sidra de manzana. En 2011, un gran brote de colitis hemorrágica atribuido a un serotipo distinto del O157 (a saber, *E. coli* O104:H4) se relacionó con el consumo de coles contaminadas en Alemania. El microorganismo tuvo virulencia creciente que se caracterizó tanto por adherencia aumentada como por la producción de toxinas shigoides (véase la referencia de Buchholz *et al*., 2011).

***E. coli* enteroinvasiva (EIEC)** produce una enfermedad muy similar a la shigelosis. La enfermedad ocurre más a menudo en los niños en países en vías de desarrollo y en personas que viajan a estos países. Al igual que *Shigella*, las cepas de EIEC no fermentan lactosa o la fermentan en una etapa tardía y son inmóviles. EIEC produce enfermedad al invadir las células epiteliales de la mucosa intestinal.

***E. coli* enteroagregativa (EAEC)** produce una diarrea aguda y crónica (mayor de 14 días de duración) en personas de países en vías de desarrollo. Los microorganismos mencionados también son la causa de cuadros de origen alimentario en países industrializados, y se les ha vinculado con la diarrea del viajero y la diarrea persistente en sujetos con VIH. Se caracterizan por sus perfiles específicos de adherencia a células humanas;

este grupo de *E. coli* productora de diarrea es muy heterogéneo y no se han dilucidado del todo sus mecanismos patógenos exactos. Algunas cepas de EAEC producen toxina similar a ST (véanse los comentarios anteriores sobre O104:H11 de *E. coli*); otros, una enterotoxina codificada por plásmido que ocasiona daño celular; y otros más, una hemolisina. Es posible sospechar el diagnóstico con base en los datos clínicos, pero se requiere confirmación por medio de técnicas de adherencia en cultivo tisular, que no realizan muchos laboratorios clínicos.

3. Septicemia. Cuando las defensas normales del hospedador son inadecuadas, *E. coli* puede llegar al torrente sanguíneo y producir septicemia. Los recién nacidos son muy sensibles a septicemia por *E. coli* porque carecen de anticuerpos IgM. Puede presentarse sepsis secundaria a infección de vías urinarias y a menudo el clon principal asociado con la invasión es *E. coli* O25b/ST131.

4. Meningitis. *E. coli* y estreptococos del grupo B son las principales causas de meningitis en los lactantes. Casi 80% de las *E. coli* provenientes de casos de meningitis tiene el antígeno K1. Este antígeno reacciona en forma cruzada con el polisacárido capsular del grupo B de *N. meningitidis*. El mecanismo de virulencia relacionado con el antígeno K1 se revisa en la referencia de Kim *et al.* (2005).

B. *Klebsiella-Enterobacter-Serratia; Proteus-Morganella-Providencia;* y *Citrobacter*

La patogenia de la enfermedad causada por estos grupos de bacilos gramnegativos entéricos es similar a la de los factores inespecíficos en la enfermedad causada por *E. coli*.

1. *Klebsiella*. *K. pneumoniae* está presente en el sistema respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas sanas. Produce una pequeña proporción (alrededor de 1%) de las neumonías bacterianas. *K. pneumoniae* puede producir una consolidación pulmonar necrosante hemorrágica extensa. Produce infecciones urinarias y bacteriemia con lesiones focales en pacientes débiles. Otros microorganismos entéricos también producen neumonía. En fecha reciente surgió un clon particular de *K. pneumoniae* como causa de absceso hepático piógeno extrahospitalario (adquirido en la comunidad) observado sobre todo en varones asiáticos de todo el mundo. Esta cepa de K1 encapsulada tiene un fenotipo hipermucoviscoso cuando crece en cultivo. Las especies de *Klebsiella* se encuentran entre las 10 bacterias más patógenas causantes de infecciones intrahospitalarias. La tipificación de la secuencia de muchos sitios ha identificado el surgimiento global de dos clones de particular importancia. La secuencia del tipo 16 ha elaborado betalactamasas de espectro extendido que resulta en resistencia a un conjunto amplio de penicilinas y cefalosporinas (pero no antibióticos de carbapenémicos). ST 258 es una cepa resistente a múltiples fármacos, denominada "productor de carbapenamasa", debido a que es resistente a todos los antibióticos betalactámicos, incluidos los carbapenémicos de amplio espectro. Típicamente es resistente a otros antimicrobianos como resultado de la adquisición de plásmidos que portan genes de resistencia múltiple. Se han aislado otras dos klebsielas relacionadas con trastornos inflamatorios de las vías respiratorias altas: *Klebsiella pneumoniae* subespecie *ozaenae* se ha aislado de la mucosa nasal en la ocena, una atrofia fétida y progresiva de las mucosas; y *Klebsiella pneumoniae* subespecie *rhinoscleromatis* del rinoescleroma, un granuloma destructor de la nariz y la faringe. *Klebsiella granulomatis* (llamada anteriormente *Calymmatobacterium granulomatis*) ocasiona una enfermedad ulcerosa genital crónica, el llamado **granuloma inguinal**, una enfermedad de transmisión sexual poco común. El microorganismo se multiplica con gran dificultad en medios que contienen yema de huevo. La ampicilina o la tetraciclina constituyen fármacos eficaces.

2. *Enterobacter*. Tres especies/complejos de *Enterobacter* que son complejos *E. cloacae,* complejo E. *aerogenes* y *E. sakazakii* (ahora dentro del género *Cronobacter*), ocasionan la mayor parte de las infecciones por esta especie. Estas bacterias fermentan lactosa, pueden contener cápsulas que producen colonias mucoides y son móviles. Tales microorganismos son causa de una amplia gama de infecciones hospitalarias como neumonía, infecciones urinarias, infecciones de heridas y dispositivos. La mayor parte de las cepas posee una β lactamasa cromosómica denominada *ampC* que las vuelve intrínsecamente resistentes a la ampicilina y a las cefalosporinas de primera y segunda generaciones. Las mutantes suelen producir en exceso β lactamasa que confiere resistencia a las cefalosporinas de tercera generación. Al igual que *K. pneumoniae*, algunas cepas intrahospitalarias tienen plásmidos que las hacen resistentes a múltiples fármacos, incluidos los antimicrobianos carbapenémicos.

3. *Serratia*. *S. marcescens* es un microorganismo patógeno oportunista frecuente en pacientes hospitalizados. *Serratia* (por lo general no pigmentada) produce neumonía, bacteriemia y endocarditis, sobre todo en adictos a narcóticos y en pacientes hospitalizados. Sólo cerca de 10% de las cepas forma el pigmento rojo (prodigiosina) que por mucho tiempo ha caracterizado a *Serratia marcescens*. *S. marcescens* suele tener resistencia a múltiples aminoglucósidos y penicilinas; las infecciones se pueden tratar con cefalosporinas de tercera generación.

4. *Proteus*. Las bacterias del género *Proteus* producen infecciones en el ser humano sólo cuando las bacterias salen del tubo digestivo. Se encuentran presentes en las infecciones urinarias y producen bacteriemia, neumonía y lesiones focales en pacientes débiles o en los que reciben infusiones intravenosas. *P. mirabilis* produce infecciones de las vías urinarias y en ocasiones otras infecciones. *Proteus vulgaris* y *Morganella morganii* son microorganismos patógenos de infecciones hospitalarias.

Las bacterias del género *Proteus* producen ureasa, que resulta en una hidrólisis rápida de la urea con liberación de amoniaco. Por consiguiente, en las infecciones de las vías urinarias con *Proteus*, la orina se vuelve alcalina y favorece la formación de cálculos imposibilitando prácticamente la acidificación. La motilidad rápida de *Proteus* puede contribuir a la invasión del sistema urinario.

Las cepas de *Proteus* tienen una sensibilidad muy variable a los antibióticos. *P. mirabilis* suele inhibirse con penicilinas; los antibióticos más activos de otros miembros del grupo son los aminoglucósidos y las cefalosporinas.

5. *Providencia*. Las bacterias del género *Providencia* (*Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* y *Providencia stuartii*) son miembros de la microflora intestinal normal. Todos

producen infecciones urinarias y ocasionalmente otras infecciones; a menudo son resistentes al tratamiento antimicrobiano.

6. Citrobacter. Las especies de *Citrobacter* pueden causar infecciones de vías urinarias y septicemia, sobre todo en pacientes débiles hospitalizados. Además, *Citrobacter koseri* se ha asociado con meningitis en lactantes de menos de dos meses de edad.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen orina, sangre, pus, líquido cefalorraquídeo, esputo u otro material orgánico, según lo determine la ubicación del proceso patológico.

B. Frotis

Las *Enterobacteriaceae* tienen una estructura morfológica parecida entre sí. La presencia de grandes cápsulas es sugestiva de *Klebsiella*.

C. Cultivo

Las muestras se colocan en placas de agar sangre y medios diferenciales. Con estos últimos, a menudo es factible la identificación preliminar rápida de las bacterias entéricas gramnegativas (capítulo 47).

D. Pruebas de amplificación de ácido nucléico (NAAT)

En la actualidad se dispone de una variedad de NAAT múltiple diseñadas para detectar la mayor parte de patógenos que causan síndromes particulares y muchas más están bajo ensayo clínico. Tal grupo de pruebas detecta miembros de *Enterobacteriaceae* en muestras como hemocultivos positivos, LCR, muestras respiratorias y heces. En algunos de estos análisis también se detectan marcadores de resistencia. Para información más actualizada de tales ensayos el lector debe buscar en la literatura.

Inmunidad

Los anticuerpos específicos se presentan en infecciones sistémicas, pero no se ha determinado si después ocurre inmunidad importante contra los microorganismos.

Tratamiento

No se dispone de ningún tratamiento individual específico. Las sulfonamidas, la ampicilina, las cefalosporinas, las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos tienen efectos antibacterianos notables contra los entéricos, pero es importante la variación de la susceptibilidad y las pruebas de laboratorio para conocer la susceptibilidad a los antibióticos. Es frecuente la resistencia a múltiples fármacos y está sujeta al control de plásmidos transmisibles.

Determinados trastornos que predisponen a la infección por estos microorganismos necesitan corrección quirúrgica, por ejemplo, el alivio de la obstrucción de las vías urinarias, el cierre de una perforación de un órgano abdominal o la resección de la porción bronquiectásica del pulmón.

El tratamiento de la bacteriemia por gramnegativos y el choque séptico inminente exigen la instauración rápida de antimicrobianos, el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico y el tratamiento de la coagulación intravascular diseminada.

Se han propuesto diversos medios para la prevención de la diarrea del viajero, como la ingestión diaria de suspensión de subsalicilato de bismuto (el subsalicilato de bismuto puede inactivar la enterotoxina de *E. coli in vitro*) y dosis periódicas de tetraciclinas u otros antimicrobianos por periodos limitados. Puesto que ninguno de estos métodos es por completo eficaz ni carece de efectos adversos, se recomienda en general tener precaución respecto al consumo de alimentos y bebidas en zonas donde las condiciones sanitarias del medio ambiente son deficientes y que el tratamiento temprano y breve (p. ej., con ciprofloxacina o trimetoprim-sulfametoxazol) se sustituya por la profilaxis.

Epidemiología, prevención y control

Las bacterias entéricas se establecen en el tubo digestivo normal pocos días después del nacimiento y a partir de entonces constituyen una cantidad importante de la microflora bacteriana aerobia (anaerobios facultativos) normal. *E. coli* es el prototipo. Los microorganismos entéricos que se encuentran en agua o leche son aceptados como prueba de contaminación fecal por residuos u otras fuentes.

Las medidas de control no son factibles por lo que respecta a la microbiota endógena normal. Los serotipos de *E. coli* enteropatógena debieran controlarse como las salmonelas (véase adelante). Algunos de los microorganismos entéricos constituyen un problema importante en los hospitales. Es muy importante reconocer que muchas bacterias entéricas son "oportunistas" que producen enfermedad cuando se introducen en pacientes debilitados. En los hospitales o en otras instituciones, tales bacterias por lo común las transmite el personal, instrumentos o al administrar fármacos parenterales. Su control depende del lavado de manos, asepsia rigurosa, esterilización del equipo, desinfección, restricción en el tratamiento intravenoso y precauciones estrictas para mantener estéril el sistema urinario (es decir, drenaje cerrado). Para control de patógenos resistentes a múltiples fármacos, especialmente productores de carbapenamasa, a menudo se emplea la vigilancia de pacientes hospitalizados con realización puntual de precauciones ante contacto para pacientes colonizados.

SHIGELAS

El hábitat natural de las shigelas está limitado al tubo digestivo de seres humanos y otros primates, donde producen disentería bacilar.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las shigelas son bacilos gramnegativos delgados; las formas cocobacilares se presentan en cultivos jóvenes.

B. Cultivo

Las shigelas son anaerobios facultativos pero se multiplican mejor en condiciones aeróbicas. Las colonias convexas, circulares,

CUADRO 15-2 **Especies patógenas de *Shigella***

Designación presente	Grupo y tipo	Manitol	Ornitina descarboxilasa
Shigella dysenteriae	A	–	–
Shigella flexneri	B	+	–
Shigella boydii	C	+	–
Shigella sonnei	D	+	+

transparentes con bordes intactos alcanzan un diámetro de casi 2 mm en 24 h.

C. Características de crecimiento

Todas las shigelas fermentan glucosa. Con excepción de *Shigella sonnei,* no fermentan lactosa. La imposibilidad para fermentar lactosa distingue a las shigelas en los medios diferenciales. Las shigelas forman ácido a partir de hidratos de carbono pero pocas veces producen gas. También se dividen en las que fermentan manitol y en las que no lo fermentan (cuadro 15-2).

Estructura antigénica

Las shigelas tienen un patrón antigénico complejo. Hay gran superposición en el comportamiento serológico de diferentes especies y la mayor parte de ellas comparte antígenos O con otros bacilos entéricos.

Los antígenos O somáticos de las shigelas son lipopolisacáridos. Su especificidad serológica depende del polisacárido. Existen más de 40 serotipos. La clasificación de las shigelas se basa en las características bioquímicas y antigénicas. Las especies patógenas son *S. sonnei*, *Shigella flexneri, S. dysenteriae* y *Shigella boydii* (cuadro 15-2).

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones por *Shigella* casi siempre están limitadas al tubo digestivo; la invasión de la circulación sanguínea es poco frecuente. Las shigelas son muy transmisibles; la dosis infecciosa es del orden de 10^3 microorganismos (en tanto que por lo general es de 10^5 a 10^8 para salmonelas y vibrios). El proceso patológico esencial es la invasión de las células del epitelio de la mucosa (p. ej., las células M) por la fagocitosis activada, el escape de la vacuola fagocítica, la multiplicación y la diseminación dentro del citoplasma de la célula epitelial y su paso a las células adyacentes. Los microabscesos de la pared del intestino grueso y la porción terminal del intestino desencadenan necrosis de la membrana mucosa, ulceración superficial, hemorragia y formación de una "seudomembrana" en la zona ulcerosa. Ésta consta de fibrina, leucocitos, residuos celulares, una membrana mucosa necrótica y bacterias. A medida que cede el proceso, el tejido de granulación llena las úlceras y se forma un tejido cicatricial.

Toxinas

A. Endotoxina

Con la autólisis, todas las shigelas liberan su lipopolisacárido tóxico. Esta endotoxina probablemente contribuye a la irritación de la pared intestinal.

B. Exotoxina de *Shigella dysenteriae*

S. dysenteriae tipo 1 (bacilo de Shiga) produce una exotoxina termolábil que afecta tanto al intestino como al sistema nervioso central. La exotoxina es una proteína antigénica (estimula la producción de antitoxinas) y letal para los animales de experimentación. Al actuar como una enterotoxina, produce diarrea lo mismo que la toxina similar a Shiga de *E. coli*, tal vez por el mismo mecanismo. En los seres humanos, la exotoxina también inhibe la absorción de glúcidos y aminoácidos en el intestino delgado. Al actuar como una "neurotoxina", este material puede contribuir a la gravedad extrema y carácter letal de las infecciones por *S. dysenteriae* y a las reacciones del sistema nervioso central que se observan en ellas (p. ej., meningismo, coma). Los pacientes con infecciones por *Shigella flexneri* o *Shigella sonnei* presentan antitoxina que neutraliza la exotoxina de *S. dysenteriae in vitro*. La actividad tóxica es diferente a las propiedades invasivas de shigela en la disentería. Las dos pueden tener una acción sucesiva, la toxina produce una diarrea voluminosa no sanguinolenta inicial y la invasión del intestino delgado da por resultado una disentería tardía con sangre y pus en las heces.

Manifestaciones clínicas

Tras un periodo de incubación breve (uno a dos días) hay instauración súbita de dolor abdominal, fiebre y diarrea líquida. Más o menos un día después, a medida que la infección afecta al íleon y al colon, aumenta el número de deposiciones; son menos líquidas pero a menudo contienen moco y sangre. Cada evacuación se acompaña de pujo y tenesmo (espasmos rectales), con dolor abdominal bajo consiguiente. En más de la mitad de los casos de adultos, la fiebre y la diarrea ceden en forma espontánea en un lapso de dos a cinco días. Sin embargo, en los niños y los ancianos, la pérdida de agua y electrólitos puede desencadenar deshidratación, acidosis e incluso la muerte. La enfermedad causada por *S. dysenteriae* puede ser muy grave.

Con el restablecimiento, la mayoría de las personas elimina bacilos de la disentería por un breve periodo. Tras el restablecimiento de la infección, la mayoría de las personas presenta anticuerpos circulantes contra shigelas, pero no las protegen contra la reinfección.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden heces frescas, muestras de moco y exudados rectales para cultivo. En el examen microscópico suele observarse un gran número de leucocitos fecales y algunos eritrocitos.

B. Cultivo

Los materiales se siembran en medios diferenciales (p. ej., agar de MacConkey o EMB) y en medios selectivos (agar entérico de Hektoen o agar *xilosa-lisina-desoxicolato*), que suprimen otras *Enterobacteriaceae* y microorganismos grampositivos. Las colonias incoloras (lactosa-negativas) se inoculan en agar de hierro con triple azúcar (TSI). Los microorganismos que no producen H_2S, que producen ácido pero no gas en el fondo y una parte inclinada alcalina en medio de agar TSI y que son inmóviles

deben ser objeto de una aglutinación en el portaobjetos con antisueros específicos contra *Shigella*. El método MALDI-ToF MS no permite diferenciar entre *Shigella* y *E. coli*.

C. Serología

Las personas sanas a menudo tienen aglutininas contra varias especies de *Shigella*. Sin embargo, las cuantificaciones seriales de anticuerpo pueden mostrar un aumento del anticuerpo específico. Los procedimientos serológicos no se utilizan para diagnosticar infecciones por *Shigella*.

D. Pruebas de amplificación de ácido nucleico

Se dispone comercialmente de varias NAAT que detectan directamente shigelas en muestras fecales entre algunos de los otros enteropatógenos principales.

Inmunidad

La infección va seguida de una respuesta de anticuerpos específicos. La inyección de las shigelas muertas estimula la producción de anticuerpos en suero pero no logra proteger al ser humano contra la infección. Los anticuerpos de IgA en el intestino son importantes para limitar la reinfección. Estos pueden ser estimulados por cepas de microorganismos vivos atenuados que se administran por vía oral como vacunas experimentales. Los anticuerpos séricos para los antígenos somáticos de *Shigella* son IgM.

Tratamiento

Ciprofloxacina, ampicilina, doxiciclina y trimetoprim-sulfametoxazol son los inhibidores más frecuentes de las cepas de *Shigella* y pueden suprimir los ataques clínicos agudos de la disentería y abreviar la duración de los síntomas. La azitromicina a menudo se utiliza para tratar niños con shigelosis. Algunos antibióticos pueden fallar en erradicar los microorganismos del tubo digestivo. La resistencia a múltiples fármacos puede transmitirse por plásmidos y son frecuentes las infecciones resistentes al tratamiento. Muchos casos ceden de manera espontánea. Se deben evitar los opioides en la disentería por *Shigella*.

Epidemiología, prevención y control

Las shigelas son transmitidas por los alimentos, los dedos, las heces y las moscas ("*food, fingers, feces and flies*") de persona a persona. Una dosis infecciosa baja (1 a 100 microorganismos) es suficiente para causar enfermedad. La mayor parte de los casos de infección por *Shigella* se presenta en niños menores de 10 años de edad. La shigelosis causada predominantemente por *S. sonnei*, se ha transformado en un problema importante en los centros de asistencia diurna de Estados Unidos. *S. dysenteriae* puede propagarse ampliamente. Puesto que los seres humanos son el principal hospedador reconocido de las shigelas patógenas, los esfuerzos de control deben dirigirse a eliminar los microorganismos de este reservorio mediante: 1) control sanitario del agua, alimentos y leche; eliminación del agua residual; y control de las moscas; 2) aislamiento de los pacientes y desinfección de las excretas; 3) detección de los casos asintomáticos y portadores, sobre todo personas que manejan alimentos, y 4) tratamiento antimicrobiano de los individuos infectados.

EL GRUPO SALMONELLA

Las salmonelas suelen ser patógenas en el ser humano o en los animales cuando se adquieren por la vía oral. Son transmitidas de los animales y los productos animales al ser humano, donde producen enteritis, infección sistémica y fiebre entérica.

Morfología e identificación

Las salmonelas tienen una longitud variable. La mayor parte de las cepas son móviles con flagelos perítricos; se multiplican fácilmente en medios simples, pero casi nunca fermentan lactosa ni sacarosa. Forman ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Suelen producir H_2S. Sobreviven al congelamiento en agua por periodos prolongados. Las salmonelas son resistentes a determinadas sustancias químicas (p. ej., verde brillante, tetrationato de sodio, desoxicolato de sodio) que inhiben otras bacterias entéricas; estos compuestos son, por lo tanto, útiles para incluirlos en medios para aislar salmonelas de las heces.

Clasificación

La clasificación de las salmonelas es compleja porque los microorganismos son un continuo más que una especie definida. Los miembros del género *Salmonella* fueron clasificados originalmente con base en la epidemiología, la gama de hospedadores, las reacciones bioquímicas y las estructuras de los antígenos O, H y Vi (cuando están presentes). Los nombres (p. ej., *Salmonella typhi, Salmonella typhimurium*) fueron escritos como si fuesen género y especie; esta forma de la nomenclatura permanece generalizada pero se utiliza en forma incorrecta. Los estudios de hibridación de DNA-DNA han demostrado que hay siete grupos evolutivos. En la actualidad, el género *Salmonella* se divide en dos especies, cada una de las cuales contiene múltiples subespecies y serotipos. Las dos especies son *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (antiguamente subespecie V). *Salmonella enterica* contiene cinco subespecies: subespecie *enterica* (subespecie I); subespecie *salamae* (subespecie II); subespecie *arizonae* (subespecie IIIa); subespecie *diarizonae* (subespecie IIIb); subespecie *houtenae* (subespecie IV) y subespecie *indica* (subespecie VI). Casi todas las infecciones de seres humanos son causadas por las cepas de la subespecie I, que se designa como *Salmonella enterica* subespecie *enterica*. Pocas veces las infecciones humanas son causadas por las subespecies IIIa y IIIb o las otras subespecies que suelen encontrarse en animales de sangre fría. A menudo estas infecciones se relacionan con mascotas exóticas, como los reptiles. Parece probable que la nomenclatura ampliamente aceptada para la clasificación será la siguiente: *S. enterica* subespecie *enterica* serotipo *Typhimurium*, que puede abreviarse a *Salmonella* Typhimurium con el nombre del género en cursivas y el nombre del serotipo sin cursivas. Los laboratorios de referencia nacionales e internacionales pueden utilizar las fórmulas antigénicas que siguen al nombre de las subespecies porque imparten información más precisa sobre las cepas (cuadro 15-3).

Hay más de 2 500 serotipos de salmonelas, incluidos más de 1 400 en el grupo de hibridación de DNA I que pueden infectar al ser humano. Cuatro serotipos de salmonela que producen fiebre entérica pueden identificarse en el laboratorio clínico mediante análisis bioquímicos y serológicos. Estos serotipos deben identificarse en forma sistemática debido a su importancia clínica.

CUADRO 15-3 Fórmulas antigénicas representativas de salmonelas

Grupo O	Serotipo	Fórmula antigénica[a]
D	*Salmonella* Typhi	9, 12 (Vi):d:—
A	*Salmonella* Paratyphi A	1, 2, 12:a—
C_1	*Salmonella* Choleraesuis	6, 7:c:1,5
B	*Salmonella* Typhimurium	1, 4, 5, 12:i:1, 2
D	*Salmonella* Enteritidis	1, 9, 12:g, m:—

[a] Antígenos O: numerales.
(Vi): antígeno Vi si está presente.
Antígeno H de fase 1: letras minúsculas.
Antígeno H de fase 2: numerales.

Son los siguientes: *Salmonella* Paratyphi A (serogrupo A), *Salmonella* Paratyphi B (serogrupo B), *Salmonella* Choleraesuis (serogrupo C1) y *Salmonella* Typhi (serogrupo D). La *Salmonella* serotipos Enteritidis y Typhimurium son los dos serotipos más frecuentes notificados en Estados Unidos. Las otras más de 1400 salmonelas que se aíslan en los laboratorios clínicos se seroagrupan por sus antígenos O en los serogrupos A, B, C_1, C_2, D y E; algunos no son tipificables con esta serie de antisueros. Las cepas son luego remitidas a los laboratorios de referencia para la identificación serológica definitiva. Esto permite a las autoridades de salud pública vigilar y evaluar la epidemiología de las infecciones por *Salmonella* en cada estado y en todo el país.

Variación

Los microorganismos pueden perder los antígenos H y volverse inmóviles. La pérdida del antígeno O conlleva un cambio de la forma de colonia lisa a la rugosa. El antígeno Vi puede perderse en forma parcial o completa. Los antígenos pueden adquirirse (o perderse) durante el proceso de transducción.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Salmonella Typhi, *Salmonella* Choleraesuis y tal vez *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* Paratyphi B causan infecciones principalmente en el ser humano y la infección por estos microorganismos implica la adquisición de una fuente humana. Sin embargo, la mayor parte de las salmonelas son principalmente patógenas en los animales que constituyen el reservorio para la infección humana: pollos, cerdos, roedores, ganado vacuno, mascotas (desde tortugas hasta loros) y muchos otros.

Los microorganismos casi siempre entran a través de la vía oral, por lo general con alimentos o bebidas contaminados. La dosis infecciosa media para producir infección manifiesta o asintomática en el ser humano es 10^5 a 10^8 salmonelas (pero tal vez un mínimo de 10^3 microorganismos de la especie *Salmonella* Typhi). Entre los factores del hospedador que contribuyen a la resistencia a la infección por salmonellas están la acidez del jugo gástrico, la microbiota normal intestinal y la inmunidad intestinal local (véase más adelante).

Las salmonelas producen tres tipos de enfermedad en el ser humano, pero son frecuentes las formas mixtas (cuadro 15-4).

A. "Fiebres entéricas" (fiebre tifoidea)

Este síndrome es producido sólo por algunas de las salmonelas, de las cuales *Salmonella* Typhi (fiebre tifoidea) es la más importante. Las salmonelas ingeridas llegan al intestino delgado, desde el cual entran en los linfáticos y luego a la circulación sanguínea. Son transportadas por la sangre a muchos órganos, incluido el intestino. Los microorganismos se multiplican en el tejido linfoide intestinal y son excretados en las heces.

Tras un periodo de incubación de 10 a 14 días, se presenta fiebre, malestar, cefalea, estreñimiento, bradicardia y mialgia. La fiebre se eleva hasta alcanzar una meseta alta y se presenta esplenomegalia y hepatomegalia. Las manchas de color de rosa, por lo general en la piel de la pared abdominal o del tórax se presentan por poco tiempo en casos esporádicos. Las concentraciones de leucocitos son normales o bajas. En la época previa a los antibióticos, las principales complicaciones de la fiebre entérica eran hemorragia intestinal y perforación y la tasa de mortalidad era 10 a 15%. El tratamiento con antibióticos ha disminuido la tasa de mortalidad a menos de 1 por ciento.

Las principales lesiones son hiperplasia y necrosis del tejido linfoide (p. ej., placas de Peyer), hepatitis, necrosis focal del hígado e inflamación de la vesícula biliar, el periostio, los pulmones y otros órganos.

B. Bacteriemia con lesiones focales

Por lo común se relaciona con *S. choleraesuis* pero puede causarla cualquier serotipo de salmonela. Después de la infección

CUADRO 15-4 Enfermedades clínicas producidas por salmonelas

	Fiebres entéricas	Septicemias	Enterocolitis
Periodo de incubación	Siete a 20 días	Variable	8 a 48 h
Inicio	Insidioso	Brusco	Brusco
Fiebre	Gradual, luego una meseta alta, con estado "tifoideo"	Aumento rápido y luego espigas en temperatura "séptica"	Por lo general baja
Duración de la enfermedad	Varias semanas	Variable	Dos a cinco días
Síntomas digestivos	A menudo estreñimiento inicial; más tarde, diarrea sanguinolenta	A menudo ninguno	Náusea, vómito, diarrea al principio
Hemocultivos	Positivos durante la primera y la segunda semanas	Positivo durante la fiebre alta	Negativos
Coprocultivos	Positivos a partir de la segunda semana; negativos en etapas más iniciales de la enfermedad	Pocas veces positivo	Positivos poco después del inicio

oral, hay una invasión inicial de la circulación sanguínea (con posibles lesiones focales en pulmones, huesos, meninges, etc.), pero no suelen presentarse las manifestaciones intestinales. Los hemocultivos son positivos.

C. Enterocolitis

Ésta es la manifestación más frecuente de la infección por salmonela. En Estados Unidos, destacan *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis, pero las enterocolitis son causadas por cualquiera de los más de 1400 serotipos de salmonelas del grupo I. Después de 8 a 48 h de la ingestión de las salmonelas se presentan náusea, cefalea, vómito y diarrea abundante, con escasos leucocitos en las heces. Es frecuente la febrícula, pero el episodio suele resolverse en un lapso de dos a tres días.

Se presentan las lesiones inflamatorias del intestino delgado y colon. La bacteriemia es poco común (2 a 4%) excepto en las personas inmunodeficientes. Los hemocultivos suelen ser negativos, pero los coprocultivos son positivos para salmonela y pueden mantenerse positivos por varias semanas después del restablecimiento clínico.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

La sangre para cultivo se debe obtener en varias ocasiones. En casos de fiebre entérica y septicemia, los hemocultivos suelen ser positivos en la primera semana de la enfermedad. Los cultivos de médula ósea son útiles. Los cultivos de orina pueden ser positivos después de la segunda semana.

Es importante tomar repetidas veces las muestras de heces. En las fiebres de origen entérico, en las heces se obtienen resultados positivos a partir de la segunda o la tercera semana; en el caso de la enterocolitis se obtienen también dichos resultados durante la primera semana.

Un cultivo positivo de secreción duodenal establece la presencia de salmonela en las vías biliares de los portadores.

B. Métodos bacteriológicos para aislamiento de salmonelas

1. Cultivos en medio diferencial. Los medios de EMB, MacConkey o desoxicolato permiten la detección rápida de microorganismos que no fermentan lactosa (no sólo salmonelas y shigelas sino también *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, etc.). Los microorganismos grampositivos son inhibidos en cierto grado. El medio de sulfito de bismuto permite la detección rápida de salmonelas que forman colonias negras a causa de la producción de H_2S. Muchas salmonelas producen H_2S.

2. Cultivos en medio selectivo. La muestra se siembra en placa de agar salmonela-shigela (SS), agar entérico Hektoen, agar xilosa-lisina descarboxilasa (XLD) o agar desoxicolato citrato, que favorecen la multiplicación de las salmonelas y las shigelas más que de otras *Enterobacteriaceae*. También se dispone de agares cromógenos específicamente para la recuperación de Salmonella

3. Cultivos de enriquecimiento. La muestra (por lo general las heces) también se coloca en caldo de selenito F o de tetrationato, los cuales inhiben la replicación de las bacterias intestinales normales y permiten la multiplicación de las salmonelas. Después de la incubación durante uno a dos días, se siembran en placas con medios diferenciales y selectivos.

4. Identificación final. Las colonias sospechosas de medios sólidos se identifican por los tipos de reacción bioquímica y las pruebas de aglutinación en portaobjetos con sueros específicos.

C. Métodos serológicos

Se utilizan técnicas serológicas para identificar cultivos desconocidos con sueros conocidos (véase adelante) y también se puede utilizar para determinar títulos de anticuerpos en pacientes con enfermedades desconocidas, aunque las últimas no son muy útiles para el diagnóstico de las infecciones por *Salmonella*.

1. Prueba de aglutinación. En esta prueba, los sueros conocidos y el cultivo desconocido se mezclan en un portaobjetos. Cuando se forman grumos, se pueden observar a los pocos minutos. Esta prueba es muy útil para la identificación preliminar rápida de los cultivos. Se dispone de estuches comerciales para aglutinar y determinar el serogrupo de las salmonelas mediante sus antígenos O: A, B, C_1, C_2, D y E.

2. Prueba de aglutinación con dilución en tubo (prueba de Widal). Las aglutininas séricas aumentan de manera brusca durante la segunda y la tercera semanas de la infección por *Salmonella* Typhi. La prueba de Widal para detectar estos anticuerpos contra los antígenos O y H se ha utilizado por decenios. Se necesitan por lo menos dos muestras de suero, obtenidas a intervalos de siete a 10 días, para demostrar una elevación del título de anticuerpo. Las diluciones seriales de sueros desconocidos se evalúan contra antígenos de salmonelas representativas. Ocurren resultados falsos positivos y falsos negativos. Los criterios de interpretación cuando se evalúan muestras de suero individuales son variables, pero se considera positivo un título contra el antígeno O > 1:320 y contra el antígeno H > 1:640. En algunos portadores hay títulos elevados de anticuerpos contra el antígeno Vi. Las alternativas a la prueba de Widal comprenden los métodos colorimétrico rápido y de inmunoanálisis enzimático. Hay informes contradictorios en la bibliografía en torno a la superioridad de estos métodos respecto a la prueba de Widal. No se puede confiar en los resultados de las pruebas serológicas para la infección por *Salmonella* para establecer un diagnóstico definitivo de fiebre tifoidea y se utilizan más a menudo en zonas de escasos recursos en el mundo donde no es fácil llevar a cabo los hemocultivos.

D. Pruebas de amplificación de ácido nucleico

Como ya fue mencionado respecto a shigelas, se dispone de varias presentaciones comerciales de NAAT para detección directa de salmonelas en muestras fecales de pacientes con diarrea aguda. Dado que tales ensayos son nuevos, está bajo investigación la reproducción de sus características e impacto en la vigilancia de la salud pública.

Inmunidad

Las infecciones por *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Paratyphi suelen conferir un determinado grado de inmunidad. Puede haber reinfección pero a menudo es más leve que la primera

infección. Los anticuerpos circulantes contra antígenos O y Vi están relacionados con la resistencia a la infección y la enfermedad. Sin embargo, pueden presentarse recaídas en un lapso de dos a tres semanas después del restablecimiento pese a los anticuerpos. Los anticuerpos IgA secretores pueden evitar la adherencia de las salmonelas al epitelio intestinal.

Las personas con hemoglobina S/S (anemia drepanocítica) son muy susceptibles a las infecciones por *Salmonella,* sobre todo a la osteomielitis. Las personas con hemoglobina A/S (rasgo drepanocítico) son más susceptibles que las personas sanas (aquellas con la hemoglobina A/A).

Tratamiento

Aunque en la fiebre entérica y la bacteriemia con lesiones focales es necesario el tratamiento antimicrobiano, en la mayor parte de los casos de enterocolitis no lo es. En los recién nacidos es importante el tratamiento antimicrobiano de la enteritis por *Salmonella*. En la enterocolitis, los síntomas y la excreción de las salmonelas pueden ser prolongados por el tratamiento antimicrobiano. En la diarrea grave, es esencial la reposición de líquidos y electrólitos.

El tratamiento antimicrobiano de las infecciones por *Salmonella* invasiva es con ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol o una cefalosporina de tercera generación. La resistencia a múltiples fármacos transmitida genéticamente por plásmidos en las bacterias entéricas constituye un problema en las infecciones por *Salmonella*. Las pruebas de susceptibilidad son un auxiliar importante para seleccionar un antibiótico apropiado.

En la mayoría de los portadores, los microorganismos persisten en la vesícula biliar (sobre todo si hay cálculos biliares presentes) y en las vías biliares. Algunos portadores crónicos se han aliviado con ampicilina sola, pero casi en todos los casos se debe combinar la colecistectomía con el tratamiento farmacológico.

Epidemiología

Las heces de las personas que tienen una enfermedad asintomática o que son portadoras constituyen una fuente más importante de contaminación que los casos clínicos declarados que rápidamente se aíslan, por ejemplo, cuando los portadores que trabajan manejando alimentos "diseminan" los microorganismos. Muchos animales, como el ganado vacuno, los roedores y las aves de corral, tienen una infección natural con diversas salmonelas y tienen las bacterias en sus tejidos (carne), excretas o huevos. Se le ha dado mucha publicidad a la gran frecuencia de salmonelas en los pollos que se preparan en el comercio. La frecuencia de fiebre tifoidea ha disminuido, pero la de otras infecciones por *Salmonella* ha aumentado notablemente en Estados Unidos. El problema probablemente es agravado por el uso generalizado de alimentos de animales que contienen antimicrobianos que favorecen la proliferación de las salmonelas resistentes a los fármacos y su transmisión potencial al ser humano.

A. Portadores

Después de la infección manifiesta o asintomática, algunas personas siguen albergando salmonelas en sus tejidos por periodos variables (p. ej. portadores convalecientes o portadores permanentes sanos). De las personas que sobreviven a la fiebre tifoidea, 3% se vuelve portador permanente y alberga los microorganismos en la vesícula biliar, las vías biliares o, pocas veces, en el intestino o las vías urinarias.

B. Fuentes de infección

Las fuentes de infección son alimentos y bebidas que están contaminados con salmonelas. Las siguientes fuentes son importantes:

1. Agua. La contaminación con heces a menudo produce epidemias explosivas.

2. Leche y otros productos lácteos (helado, queso, natillas). Contaminación con heces y pasteurización inadecuada o manejo inadecuado. Algunos brotes epidémicos son rastreables a la fuente de suministro.

3. Mariscos. Provenientes de agua contaminada.

4. Huevos desecados o congelados. De pollos infectados o contaminados durante el procesamiento.

5. Carnes y sus derivados. De animales infectados (pollo) o contaminación con heces por roedores o seres humanos.

6. Drogas "recreativas". Mariguana y otras drogas.

7. Colorantes de animales. Colorantes (p. ej., carmín) que se utilizan en fármacos, alimentos y cosméticos.

8. Mascotas caseras. Tortugas, perros, gatos, mascotas exóticas como reptiles, etcétera.

Prevención y control

Se deben poner en práctica medidas sanitarias para prevenir la contaminación de los alimentos y el agua por los roedores u otros animales que excretan salmonelas. Se debe cocer minuciosamente pollo, carnes y huevos infectados. No se debe permitir que los portadores trabajen en la manipulación de alimentos y deben observar precauciones higiénicas estrictas.

Actualmente se dispone de dos vacunas contra la tifoidea en Estados Unidos: una vacuna de microorganismos vivos atenuados que se administra por vía oral y una vacuna de polisacárido capsular Vi para uso intramuscular. Se recomienda la vacunación en viajeros a zonas endémicas, sobre todo si el viajero visita zonas rurales o pequeños poblados donde son escasas las opciones de alimento. Las dos vacunas tienen una eficacia de 50 a 80%. Es necesario consultar la Web de los *Centers for Disease Control and Prevention* o solicitar orientación de alguna clínica de viajeros para obtener la información más actualizada sobre vacunas y así conocer el tiempo necesario para la vacunación primaria y los límites de edad que son variables con cada vacuna.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* son bacilos gramnegativos cortos que proliferan rápidamente en los medios estándar de laboratorio.
- Los miembros de este grupo son catalasa-positivos; nitrato-positivos y con excepción de *Plesiomonas*, son negativos

a la citocromo oxidasa. Los microorganismos se identifican fácilmente por su capacidad de fermentar la lactosa en el medio de MacConkey y por otras acciones bioquímicas o con las nuevas tecnologías como MALDI-TOF MS.

- Las *Enterobacteriaceae* expresan diversos antígenos que incluyen los somáticos o el O (liposacárido de la pared celular), los capsulares o K y los flagelares o H. *Salmonella* expresa los antígenos Vi que constituyen los factores de virulencia y se utilizan para la serotipificación de los microorganismos que los tienen.
- Las *Enterobacteriaceae* ocasionan diversas infecciones en los seres humanos las cuales se clasifican en forma general en enfermedades entéricas o infecciones extraintestinales, como las infecciones de vías urinarias, bacteriemia y meningitis.
- Los géneros que ocasionan enfermedades entéricas incluyen *Salmonella, Shigella* y *E. coli* productora de diarrea, de la cual hay seis tipos con base en los mecanismos patógenos (toxígenos, invasores o ambos).
- La infección extraintestinal más común causada por dichos microorganismos se localiza en las vías urinarias. Predomina *E. coli*, pero los microorganismos urea-positivos, como las especies de *Proteus,* ocasionan cálculos vesicales y renales.
- Las enterobacterias adquiridas en el hospital a menudo son resistentes a muchos antimicrobianos mediados en general por determinantes de resistencia que codifican los plásmidos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un estudiante universitario de 20 años de edad acude a la clínica para estudiantes a causa de disuria, frecuencia y sensación de urgencia al orinar de 24 h de evolución; en fecha reciente comenzó a tener actividad sexual. En el análisis de orina se observan muchos polimorfonucleares. El microorganismo que tiene mayor probabilidad de ser la causa de estos síntomas y signos es
   (A) *Staphylococcus aureus*
   (B) *Streptococcus agalactiae*
   (C) *Gardnerella vaginalis*
   (D) Bacterias del género *Lactobacillus*
   (E) *Escherichia coli*
2. Una mujer de 27 años de edad es hospitalizada por presentar fiebre, con aumento progresivo de anorexia, cefalea, debilidad y alteraciones del estado mental de dos días de evolución. Trabaja en una aerolínea como azafata que vuela entre el subcontinente indio y otros lugares del sureste de Asia y la costa occidental de Estados Unidos. Diez días antes de su ingreso tuvo diarrea que persistió durante 36 h. Ha presentado estreñimiento por lo menos tres días. Su temperatura es de 39°C, su frecuencia cardiaca de 68 latidos por minuto, su presión arterial de 120/80 mmHg y su frecuencia respiratoria de 18 latidos por minuto. Está consciente de quién es y dónde se encuentra pero desconoce la fecha. Está picando en la ropa de cama. Se observan manchas de color de rosa en el tronco. La exploración física por lo demás es normal. Se llevan a cabo hemocultivos y se le instala una venoclisis. La causa más probable de su enfermedad es
   (A) *Escherichia coli enterotoxígena* (ETEC)
   (B) *Shigella soneii*
   (C) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Thphimurium (*Salmonella* Typhimurium)
   (D) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhi (*Salmonella* Typhi)
   (E) *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)
3. Los hemocultivos de la paciente de la pregunta 2 producen un bacilo gramnegativo que no fermenta la lactosa. ¿Cuál de los siguientes es un probable componente de este microorganismo?
   (A) Antígeno O157, antígeno H7 (O157:H7)
   (B) Antígeno Vi (capsular; antígeno de virulencia)
   (C) Antígeno O 139 (O139)
   (D) Ureasa
   (E) K1 (de tipo capsular 1)
4. Una mujer de 37 años de edad con antecedente de infecciones urinarias acude al servicio de urgencias con una sensación urgente al orinar así como polaquiuria y sensación de urgencia para orinar. Dice que su orina huele a amoniaco. La causa de su infección urinaria posiblemente es
   (A) *Enterobacter aerogenes*
   (B) *Proteus mirabilis*
   (C) *Citrobacter freundii*
   (D) *Escherichia coli*
   (E) *Serratia marcescens*
5. Un estudiante de 18 años de edad tiene cólicos abdominales y diarrea. Una placa de agar de MacConkey es inoculada y revela bacilos gramnegativos. Se utiliza el agar de hierro con triple azúcar (TSI) para detectar las cepas de salmonelas y shigelas. Un resultado indicativo de uno de estos dos microorganismos patógenos sería
   (A) Producción de ureasa
   (B) Motilidad en el medio
   (C) Imposibilidad para fermentar lactosa y sacarosa
   (D) Fermentación de glucosa
   (E) Producción de gas en el medio del cultivo
6. Un serotipo infrecuente de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* fue detectado por laboratorios de los departamentos de salud de estados adyacentes. Las cepas provenían todas de una región geográfica pequeña a cada lado de la frontera entre los estados, lo que indicaba una fuente común de las cepas. Todas las cepas provenían de adultos jóvenes por lo demás sanos que fumaban mariguana; la misma *Salmonella* fue aislada de una muestra de la mariguana. ¿Cuál es el método que utilizan los laboratorios para determinar que estas cepas eran las mismas?
   (A) Tipificación capsular (antígeno K)
   (B) Tipificación de antígeno O y antígeno H
   (C) Determinación de la secuencia de DNA
   (D) Determinación del tipo de fermentación en glúcidos
   (E) Determinación del tipo de reacción de la descarboxilasa
7. Un varón diabético de 43 años tiene una úlcera en el pie de 4 cm que no cicatriza. El cultivo de la úlcera produce *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis* y un bacilo gramnegativo que prolifera en la placa de agar sangre cubriendo toda la superficie de agar después de 36 h. El bacilo gramnegativo es un miembro del género
   (A) *Escherichia*
   (B) *Enterobacter*
   (C) *Serratia*
   (D) *Salmonella*
   (E) *Proteus*
8. Un niño de cuatro años de edad de Kansas City en fecha reciente comenzó a asistir al jardín de niños; después de acudir a la escuela es llevado a su pediatra por tener diarrea caracterizada por fiebre de 38.2 °C, intenso dolor abdominal bajo y diarrea inicialmente acuosa. A su madre le preocupa que las heces son sanguinolentas 24 h después de iniciada la enfermedad y el niño tiene aspecto

muy enfermo. La madre informa que los otros dos niños que asisten a la misma guardería tuvieron diarrea en fecha reciente, uno de ellos también presentaba heces sanguinolentas. ¿Cuál de los siguientes es el microorganismo patógeno que con mayor probabilidad produce la enfermedad en estos niños?

(A) Una cepa enterotoxígena de *Escherichia coli*
(B) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhi (*Salmonella* Typhi)
(C) *Shigella sonnei*
(D) *Edwardsiella tarda*
(E) *Klebsiella oxytoca*

9. Una niña de cinco años de edad asistió a una fiesta de cumpleaños en un restaurante local de comida rápida. Casi 48 h después presentó dolor abdominal tipo cólico, febrícula y tuvo cinco episodios de deposiciones semilíquidas y sanguinolentas. Es llevada al servicio de urgencias local la siguiente noche porque la diarrea persistió y ahora tiene aspecto pálido y letárgico. Al presentarse, tiene temperatura de 38 °C, está hipotensa y taquicárdica. La exploración abdominal revela hipersensibilidad dolorosa en los cuadrantes inferiores. Los análisis de laboratorio muestran una creatinina sérica de 2 mg/100 ml, hemoglobina de 8 mg/100 ml, trombocitopenia y signos de hemólisis. ¿Cuál es el microorganismo patógeno más probable que está causando la enfermedad de esta niña?

(A) *Escherichia coli* O157:H7
(B) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhimurium
(C) *Escherichia coli* enteropatógena
(D) *Edwardsiella tarda*
(E) *Plesiomonas shigelloides*

10. Un varón alcohólico indigente de 55 años de edad acude con neumonía multilobular grave. Es necesaria su intubación y la ventilación mecánica. Una tinción de Gram de su esputo revela múltiples leucocitos polimorfonucleares y bacilos gramnegativos que parecen tener cápsula. El microorganismo fermenta lactosa en agar de MacConkey y es muy mucoide. Es inmóvil y produce lisina descarboxilasa. ¿Cuál es el microorganismo que con mayor probabilidad está produciendo la enfermedad de este paciente?

(A) *Serratia marcescens*
(B) *Enterobacter aerogenes*
(C) *Proteus mirabilis*
(D) *Klebsiella pneumoniae*
(E) *Morganella morganii*

11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a los antígenos O es correcta?

(A) Todas las *Enterobacteriaceae* poseen antígenos O idénticos
(B) Se encuentran en las cápsulas de polisacárido de las bacterias entéricas
(C) Están enlazados en forma covalente a un centro de polisacárido
(D) No estimulan una respuesta inmunitaria en el hospedador
(E) No son importantes en la patogenia de la causa de la infección por bacterias entéricas

12. ¿Cuál de las siguientes pruebas es el método menos sensible para el diagnóstico de colitis causada por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga?

(A) Cultivo en agar de MacConkey con sorbitol
(B) Pruebas de toxina utilizando un inmunoanálisis enzimático
(C) Análisis de citotoxina de cultivo celular utilizando células de Vero
(D) Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de los genes que codifican la toxina Shiga.

13. Un varón VIH-positivo en fecha reciente paseó por países del Caribe en unas vacaciones que duraron dos semanas. Presentó diarrea acuosa aguda y dolor abdominal sin fiebre en la segunda semana de sus vacaciones. Tres semanas más tarde acudió a una clínica por persistencia de los síntomas y se sintió preocupado porque comenzó a perder peso. Dados sus antecedentes, usted sospecharía:

(A) *E. coli* enteroinvasora
(B) *Salmonella typhi*
(C) *E. coli* enteropatógena
(D) *Shigella flexneri*
(E) *E. coli* enteroagregada

14. ¿Por cuál de los siguientes mecanismos actúa la toxina termolábil de ETEC?

(A) Adherencia y borramiento
(B) Activación de la adenilil ciclasa
(C) Adherencia agregativa
(D) Disfunción ribosómica
(E) Ninguna de las anteriores

15. Una mujer joven solicita atención médica a causa de infecciones de vías urinarias recurrentes causadas por la misma cepa de *Proteus mirabilis*. ¿Cuál es el aspecto de mayor preocupación de su problema?

(A) No toma sus medicamentos
(B) Está embarazada, y las gestantes son más susceptibles de tener infecciones de vías urinarias
(C) Tiene cálculos de la vejiga o los riñones
(D) Su pareja sexual está infectada
(E) Tiene diabetes no manifiesta y se necesita practicar una prueba de tolerancia a la glucosa

Respuestas

1. E	5. C	9. A	13. E
2. D	6. B	10. D	14. B
3. B	7. E	11. C	15. C
4. B	8. C	12. A	

BIBLIOGRAFÍA

Buchholz U, *et al.*: German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med* 2011;365:1763-1770.

Donnenberg MS: *Enterobacteriaceae*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Eigner U, *et al.*: Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab* 2009;55:289-296.

Forsythe SS, Pitout J, Abbott S: *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Cronobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other *Enterobacteriaceae*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015.

Johnson JR, *et al.*: *E coli* sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant *E. coli* infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2010;51:286-294.

Kim BY, Kang J, Kim KS: Invasion processes of pathogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol* 2005;295:463-470.

Strockbine NA, *et al.*: *Escherichia, Shigella*, and *Salmonella*. En Jorgensen JH, Pfaller, MA, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015.

Pegues DA, Miller SI: *Salmonella* species. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

16

Pseudomonas y *Acinetobacter*

Las pseudomonas y los microorganismos del género *Acinetobacter* tienen una amplia distribución en el suelo y el agua. *Pseudomonas aeruginosa* a veces coloniza al ser humano y es el principal microorganismo patógeno humano de las pseudomonas; es invasora y toxígena, produce infecciones en pacientes con defensas alteradas y es un microorganismo patógeno importante en los hospitales. De los *Acinetobacter*, la especie *baumannii* causa la mayor parte de infecciones en seres humanos; constituye un agente patógeno intrahospitalario importante, en especial en unidades de cuidados intensivos y a menudo es resistente a muchos antibióticos.

GRUPO DE LAS PSEUDOMONAS

Estas pseudomonas son bacilos gramnegativos, móviles y aerobios, algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles. Las pseudomonas tienen una amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales. *Pseudomonas aeruginosa* a menudo está presente en pequeñas cantidades en la microbiota intestinal normal y en la piel del ser humano y es el principal microorganismo patógeno del grupo. Otras pseudomonas pocas veces producen enfermedad. La clasificación de estos microorganismos pseudomonas se basa en la homología de rRNA/DNA y en las características de cultivo comunes.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Se distribuye de manera amplia en la naturaleza y suele encontrarse en medios húmedos en los hospitales; puede colonizar al ser humano normal, en quien es un saprófito; causa enfermedades en personas con defensas afectadas, en especial en individuos con neutropenia.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

P. aeruginosa es móvil, tiene forma de bastón, mide casi 0.6 × 2 μm (figura 16-1); es gramnegativa y se observa como bacteria individual, en pares y, a veces, en cadenas cortas.

B. Cultivo

P. aeruginosa es un bacilo aerobio obligado que se multiplica con facilidad en muchos tipos de medios de cultivo, que produce en ocasiones un olor dulce o parecido al de las uvas o a la tortilla de maíz. Algunas cepas originan hemólisis. *P. aeruginosa* forma colonias redondas y lisas con un color verdoso fluorescente; suele producir el pigmento azulado no fluorescente **piocianina**, que se difunde en el agar. Otras pseudomonas no elaboran esta sustancia. Muchas cepas de *P. aeruginosa* también generan el pigmento fluorescente **pioverdina**, el cual le confiere un color verdoso al agar (figura 16-2). Algunas cepas producen el pigmento rojo oscuro **piorrubina** o el pigmento negro **piomelanina**.

En un cultivo, *P. aeruginosa* puede originar múltiples tipos de colonias (figura 16-3) y estos últimos también presentan distintas actividades bioquímicas y enzimáticas, así como diversas susceptibilidades antimicrobianas. A veces no está claro si los tipos de colonias corresponden a diferentes cepas de *P. aeruginosa* o si son variantes de la misma cepa. Los cultivos de pacientes con fibrosis quística (CF, *cystic fibrosis*) a menudo generan microorganismos de *P. aeruginosa* que forman colonias mucoides como resultado de la producción excesiva de alginato, un exopolisacárido. En los pacientes con CF, el exopolisacárido al parecer proporciona la matriz para que los microorganismos vivan en una biopelícula (capítulos 2 y 9).

C. Características de crecimiento

P. aeruginosa se multiplica bien a una temperatura de 37 a 42 °C; su crecimiento a 42 °C ayuda a distinguirla de otras especies de pseudomonas en el grupo fluorescente; es **oxidasa positiva;** no fermenta carbohidratos, pero muchas cepas oxidan glucosa. La identificación suele basarse en los datos morfológicos de la colonia, la positividad para oxidasa, la presencia de pigmentos característicos y su multiplicación a una temperatura de 42 °C. Para la diferenciación de *P. aeruginosa* de otras pseudomonas con base en la actividad bioquímica, se requieren análisis con un gran grupo de sustratos.

Estructura antigénica y toxinas

Las fimbrias (*pili*) se proyectan desde la superficie de la célula y favorecen la adherencia a las células epiteliales del hospedador. El exopolisacárido **alginato** es la causa de que las colonias mucoides se observen en los cultivos de pacientes con fibrosis quística. El lipopolisacárido, que existe en múltiples inmunotipos, interviene en muchas de las propiedades endotóxicas del microorganismo. *P. aeruginosa* puede tipificarse por el inmunotipo de lipopolisacárido y por la susceptibilidad a la piocina (bacteriocina). La mayor parte de las cepas de *P. aeruginosa* provenientes de infecciones clínicas elabora enzimas

apter 16_Carroll_4R.indd 245 14/04/16

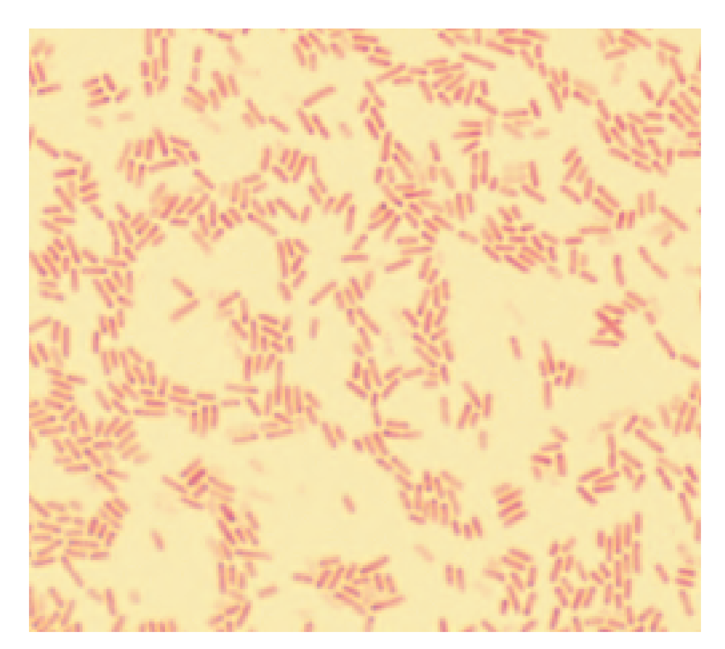


FIGURA 16-1 Tinción de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*, que mide alrededor de 0.6 × 2 µm. Aumento original × 1 000 (Cortesía de H. Reyes).

extracelulares, como elastasas, proteasas y dos hemolisinas: una fosfolipasa C termolábil y un glucolípido termoestable.

Muchas cepas de *P. aeruginosa* producen **exotoxina A**, la cual causa necrosis de los tejidos y es letal en animales cuando se inyecta de forma purificada. La toxina bloquea la síntesis de proteínas por un mecanismo de acción idéntico al de la toxina

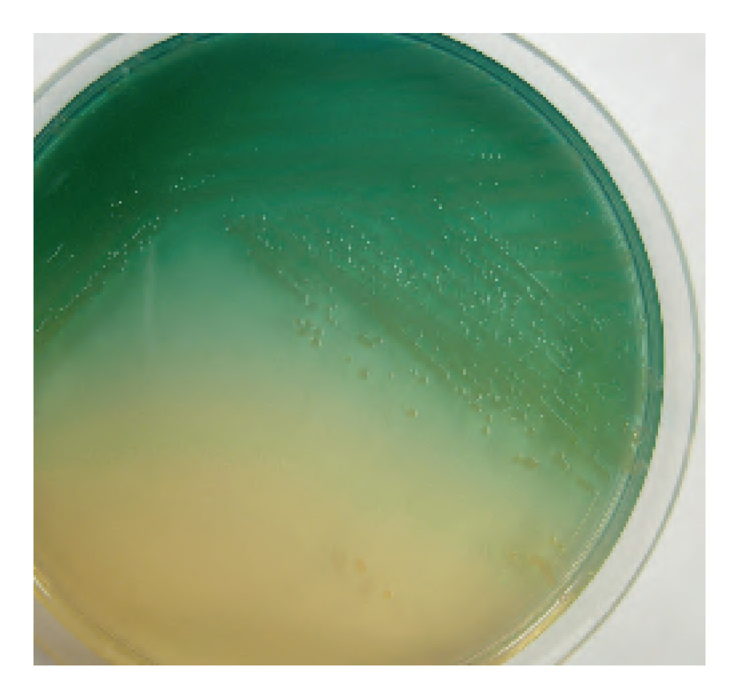
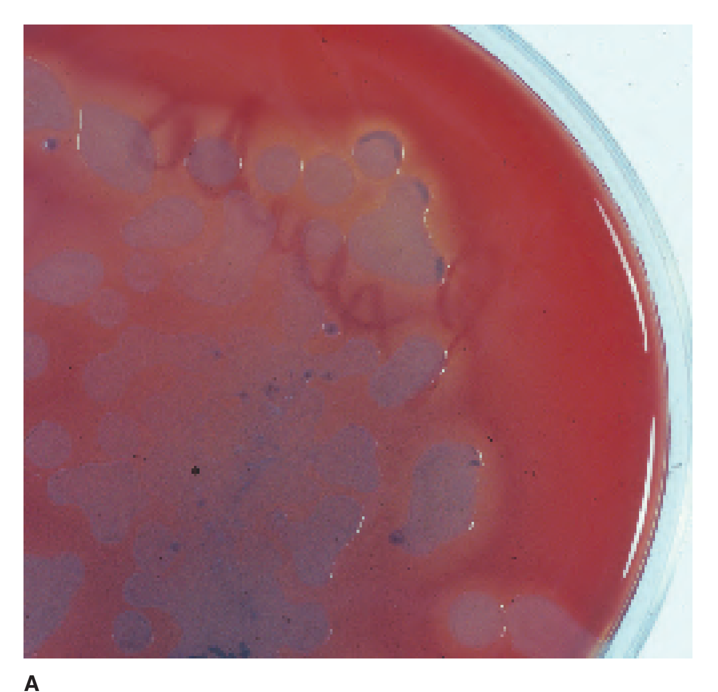
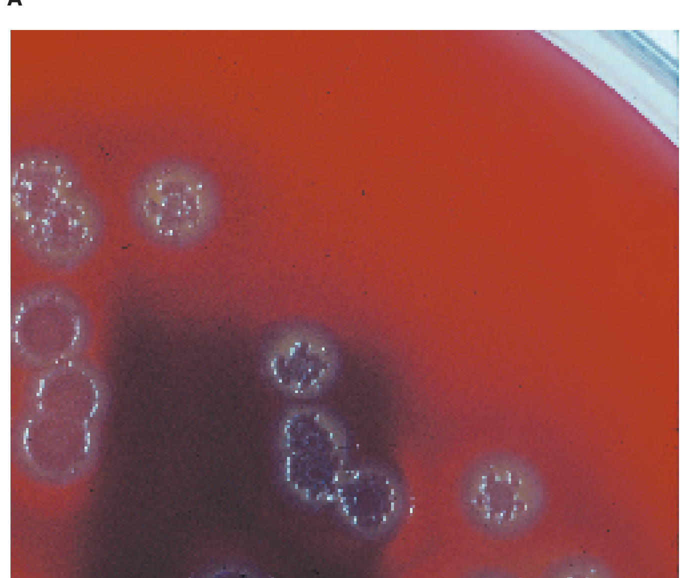


FIGURA 16-2 *Pseudomonas aeruginosa* en una placa de agar de Mueller-Hinton de 10 cm. Las colonias individuales tienen un diámetro de 3 a 4 mm. El microorganismo elabora piocianina, que es azul, y pioverdina, que es verde. En conjunto, estos pigmentos producen el color verde azulado que se observa en el agar que rodea la multiplicación de pseudomonas (Cortesía de S. Lowe).



A



B

FIGURA 16-3 Variación en las características morfológicas de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa*. **A**: colonias de color gris verdoso de 6 a 8 mm de diámetro en una placa de agar sangre de 10 cm; la sangre en el agar alrededor de las colonias muestra hemólisis. **B**: colonias secas de tono plateado en una placa con agar sangre similar; no se observa hemólisis (la *sombra oscura* en la parte inferior de la imagen se debe a una etiqueta colocada en la parte posterior de la caja de Petri) (Cortesía de H. Reyes).

de la difteria, aunque las estructuras de las dos toxinas no son iguales. Las antitoxinas para la exotoxina A se encuentran en algunos sueros humanos, incluidos los de pacientes que se han restablecido de infecciones graves por *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa produce cuatro toxinas secretadas de tipo III que causan muerte celular o interfieren con la respuesta inmunitaria del hospedador a la infección. Las **exoenzimas S y T** son enzimas bifuncionales con actividad de GTPasa y

ribosiltransferasa de ADP; la **exoenzima U** es una fosfolipasa y la **exoenzima Y** es una adenilato ciclasa.

Patogenia

P. aeruginosa tiene acción patógena sólo cuando se introduce en zonas sin defensas normales, como el caso de las mucosas y la piel afectadas por daño hístico directo, como ocurre en las quemaduras; cuando se introducen catéteres o sondas por vía intravenosa o vesical; o cuando existe neutropenia, como en la quimioterapia oncológica. Las bacterias se adhieren a las mucosas o la piel y las colonizan, las invaden de forma local y provocan un cuadro generalizado. Las causas de los procesos mencionados son las fimbrias, las enzimas y las toxinas que se describieron en párrafos anteriores. El lipopolisacárido interviene de forma directa en la aparición de fiebre, estado de choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto. La propensión a formar biopelículas de *P. aeruginosa* en la luz de los catéteres y en los pulmones de pacientes con CF contribuye en gran medida a la virulencia de este microorganismo.

P. aeruginosa y otras pseudomonas son resistentes a muchos antibióticos y, por esa razón, adquieren una actividad dominante e importante cuando se suprimen bacterias más susceptibles que son parte de la microbiota normal.

Manifestaciones clínicas

P. aeruginosa ocasiona infección de heridas y quemaduras y origina pus azul verdoso; meningitis si se introduce por punción lumbar o durante un método neuroquirúrgico e infección de vías urinarias cuando se transmite mediante catéteres, sondas e instrumentos o por soluciones de lavado.

La afectación del sistema respiratorio, sobre todo por respiradores contaminados, produce neumonía necrosante. En pacientes con CF, *P. aeruginosa* provoca neumonía crónica, una causa importante de morbilidad y mortalidad en esta población. La bacteria a menudo se encuentra en la otitis externa leve en nadadores. Puede generar otitis externa invasora (maligna) en diabéticos. La infección ocular, que puede desencadenar la destrucción rápida del ojo, es más frecuente después de lesiones o procedimientos quirúrgicos. En lactantes o en personas debilitadas, *P. aeruginosa* puede invadir la circulación sanguínea y producir septicemia mortal. Esto suele ocurrir en los pacientes con leucemia o linfoma que han recibido antineoplásicos o radioterapia y en aquéllos con quemaduras graves. En la mayor parte de las infecciones por *P. aeruginosa*, los signos y los síntomas son inespecíficos y se relacionan con el órgano afectado. A veces se puede detectar verdoglobina (un producto de degradación de la hemoglobina) o pigmento fluorescente en heridas, quemaduras u orina mediante fluorescencia ultravioleta. La necrosis hemorrágica de la piel suele presentarse en los casos de septicemia por *P. aeruginosa*; las lesiones, llamadas **ectima gangrenoso**, están rodeadas por eritema y casi nunca contienen pus. Se puede ver *P. aeruginosa* en muestras de lesiones por ectima teñidas con técnica de Gram y los cultivos son positivos. El ectima gangrenoso es infrecuente en la bacteriemia por otros microorganismos diferentes a *P. aeruginosa*. En personas normales, se observa a veces una variante de foliculitis que es producida por el agua mal clorada de bañeras de hidromasaje y piscinas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se deben obtener muestras de lesiones de la piel, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otras secreciones, según lo determine el tipo de infección.

B. Frotis

Suelen observarse bacilos gramnegativos en los frotis. No hay características morfológicas específicas que distingan a las pseudomonas en muestras de bacilos intestinales u otros gramnegativos.

C. Cultivo

Las muestras se siembran en placas con agar sangre y suelen utilizarse medios diferenciales para el cultivo de bacilos intestinales gramnegativos. Las pseudomonas se multiplican con facilidad en casi todos estos medios, pero lo hacen con más lentitud que los microorganismos intestinales. *P. aeruginosa* no fermenta lactosa y se distingue de inmediato de las bacterias fermentadoras de lactosa. El cultivo es la prueba específica para el diagnóstico de infección por *P. aeruginosa.*

Tratamiento

De modo tradicional, las infecciones importantes por *P. aeruginosa* no se tratan con un solo fármaco, porque el índice de buenos resultados es bajo con la monoterapia y las bacterias generan resistencia con rapidez cuando se utiliza un solo producto. Se usa una penicilina de amplio espectro, como la piperacilina, que es activa contra *P. aeruginosa*, en combinación con un aminoglucósido, por lo regular la tobramicina. Otros fármacos activos contra *P. aeruginosa* incluyen aztreonam, carbapenémicos (como imipenem y meropenem), y fluoroquinolonas que abarcan la ciprofloxacina. De las cefalosporinas, la ceftazidima, la cefoperazona y la cefepima son activas contra *P. aeruginosa*; la ceftazidima suele utilizarse en combinación con un aminoglucósido en el tratamiento primario de infecciones por *P. aeruginosa*, sobre todo en individuos con neutropenia. Las propiedades de susceptibilidad de *P. aeruginosa* varían con el sitio geográfico y es necesario realizar pruebas de sensibilidad como complemento para seleccionar el antimicrobiano adecuado. La resistencia a múltiples fármacos se ha tornado un grave problema en el tratamiento de infecciones intrahospitalarias por *P. aeruginosa* por la adquisición de β lactamasas cromosómicas, β lactamasas de amplio espectro y mutaciones del conducto de porina y las bombas de salida.

Epidemiología y control

P. aeruginosa es un microorganismo patógeno principalmente intrahospitalario y los métodos de control de la infección son similares a los de otros agentes patógenos intrahospitalarios. Puesto que las pseudomonas se reproducen en medios

húmedos, debe prestarse especial atención a los lavabos, los calentadores de agua, las regaderas, las tinas de hidromasaje y otras zonas húmedas.

Para fines epidemiológicos, las cepas se pueden clasificar mediante técnicas de tipificación molecular.

BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

B. pseudomallei es un bacilo pequeño, móvil, oxidasa positivo, aerobio y gramnegativo; se multiplica en medios bacteriológicos usuales, formando colonias que varían desde mucoides y lisas hasta irregulares y de color crema a naranja; prolifera a una temperatura de 42 °C y oxida glucosa, lactosa y otros carbohidratos. *B. pseudomallei* causa melioidosis (o enfermedad de Whitmore), la cual se observa sobre todo en el sudeste asiático y en el norte de Australia. El microorganismo es un saprófito natural, que se ha cultivado en suelo, agua fresca, arrozales y productos vegetales. La infección humana quizá se origina en estas fuentes por la infección de abrasiones en la piel y posiblemente por ingestión o inhalación. La infección epizoótica por *B. pseudomallei* se presenta en ovejas, cabras, cerdos, caballos y otros animales, aunque en apariencia los animales no constituyen un reservorio primario para el microorganismo. *B. pseudomallei* se considera un agente de bioterrorismo de categoría B según los *Centers for Disease Control and Prevention* de Estados Unidos debido a que, si se utiliza en proyectiles bélicos, la bacteria puede diseminarse con relativa facilidad, lo cual resultaría en morbilidad y mortalidad moderadas.

La melioidosis se manifiesta como una infección aguda, subaguda o crónica. El periodo de incubación puede ser tan corto como dos a tres días, pero también tienen lugar periodos de latencia de meses a años. Es posible encontrar una infección purulenta circunscrita en el lugar de la inoculación donde hay una herida de la piel. Esta infección circunscrita puede desencadenar una forma de infección septicémica aguda que afecta a muchos órganos. Los signos y los síntomas dependen de los principales sitios afectados. La forma más frecuente de melioidosis es la infección pulmonar, que puede ser una neumonitis primaria (*B. pseudomallei* transmitida a través de las vías respiratorias superiores o de la nasofaringe) o después de una infección purulenta circunscrita y bacteriemia. El paciente tal vez tenga fiebre y leucocitosis, con consolidación de los lóbulos superiores. Después, el sujeto se torna afebril mientras se forman cavidades en el lóbulo superior, que dan un aspecto similar al de la tuberculosis en las radiografías torácicas. Algunas personas presentan infección purulenta crónica con abscesos en piel, cerebro, pulmón, miocardio, hígado, hueso y otras zonas. Los pacientes con infecciones purulentas crónicas pueden estar afebriles y manifestar una enfermedad inconstante. La infección latente a veces se reactiva como consecuencia de la inmunodepresión.

Se debe tomar en cuenta el diagnóstico de melioidosis en un sujeto proveniente de una zona endémica que tiene una afectación fulminante del lóbulo pulmonar superior o enfermedad sistémica inexplicable. La tinción de Gram de una muestra apropiada demuestra los bacilos gramnegativos pequeños; la tinción bipolar (aspecto de alfiler de seguridad) se observa con la tinción de Wright o con la de azul de metileno. Un cultivo positivo es diagnóstico. Una prueba serológica positiva tiene utilidad diagnóstica y constituye un signo de infección previa.

La melioidosis tiene una mortalidad alta cuando no se trata. En ocasiones es necesario el drenaje quirúrgico de la infección circunscrita. Por lo general, *B. pseudomallei* es sensible a ceftazidima, imipenem, meropenem y amoxicilina con ácido clavulánico (también ceftriaxona y cefotaxima). *B. pseudomallei* suele ser resistente a penicilina, ampicilina, cefalosporinas de primera y segunda generaciones y gentamicina y tobramicina. Dependiendo de las circunstancias clínicas, el tratamiento intensivo inicial debe administrarse por un mínimo de 10 a 14 días, con ceftazidima, imipenem o meropenem; se debe considerar trimetoprim-sulfametoxazol en los pacientes con alergia grave a los β lactámicos. El tratamiento de erradicación con trimetoprim-sulfametoxazol o doxiciclina debe suministrarse después del tratamiento inicial intensivo y continuarse durante un mínimo de tres meses. La infección recurrente debido a la falta de erradicación quizá se deba a varios motivos, pero el más importante es la falta de cumplimiento del plan terapéutico de erradicación a largo plazo.

COMPLEJO *BURKHOLDERIA CEPACIA*

Burkholderia cepacia y otras 17 genomoespecies comprenden el **complejo de *B. cepacia***. La clasificación de las bacterias de este tipo es compleja y su identificación específica es difícil; son microorganismos ambientales que pueden proliferar en agua, tierra, plantas, animales y materiales vegetales en descomposición. En los hospitales, se han aislado miembros del complejo de *B. cepacia* de diversas fuentes acuáticas y ambientales, a partir de las cuales se han transmitido a los pacientes. Las personas con CF y los sujetos con enfermedad granulomatosa crónica poseen una vulnerabilidad particular para infectarse con bacterias del complejo de *B. cepacia*. Es posible que esta última se transmita de una persona con CF a otra, por contacto muy cercano. Estos sujetos pueden ser portadores asintomáticos, presentar un deterioro progresivo durante un periodo de meses o afectarse de manera rápida y progresar a neumonía necrosante y bacteriemia. Aunque un porcentaje relativamente pequeño de pacientes con fibrosis quística (CF) se infecta, la relación con la enfermedad progresiva hace del complejo de *B. cepacia* un problema importante en estas personas. Un diagnóstico de infección por *B. cepacia* en un individuo con CF puede modificar de modo notable su vida, pues quizá se les prohíba relacionarse con otros pacientes con CF y tal vez ya no sean elegibles para el trasplante pulmonar.

B. cepacia prolifera en casi todos los medios utilizados para el cultivo de muestras de bacterias gramnegativas. Cabe utilizar medios selectivos que contengan colistina (como el de agar selectivo para *B. cepacia*), y éstos se recomiendan cuando se intenta cultivar el esputo de sujetos con CF. *B. cepacia* prolifera con mayor lentitud que los bacilos gramnegativos intestinales y se necesitan tres días para que sea posible identificar las colonias a simple vista. Los microorganismos de la especie *B. cepacia* son oxidasa positivos, lisina descarboxilasa positivos y producen ácido a partir de glucosa, pero para distinguir a *B. cepacia* de otras pseudomonas, como *Stenotrophomonas maltophilia*, se necesitan diversas pruebas bioquímicas y llevarlas a cabo tal

vez sea difícil. Se recomienda enviar las cepas a laboratorios de referencia a causa de las repercusiones en el pronóstico de la colonización en pacientes con CF. En Estados Unidos, la *Cystic Fibrosis Foundation* (http://www.cff.org) respalda un laboratorio de referencia que utiliza métodos fenotípicos y genotípicos para confirmar la identidad de los microorganismos dentro del complejo de *B. cepacia.* Se deben realizar pruebas de sensibilidad en las cepas del complejo de *B. cepacia,* aunque la multiplicación lenta puede dificultar las pruebas sistemáticas. Los miembros del complejo de *B. cepacia* identificados en personas con CF muestran resistencia a múltiples fármacos. Los tratamientos eficaces abarcan trimetoprim-sulfametoxazol, meropenem y ciprofloxacina o, de manera alterna, minociclina.

STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

S. maltophilia es un bacilo gramnegativo de vida libre distribuido de forma extensa en el ambiente. En agar sangre, las colonias tienen un color violeta verdoso o grisáceo. El microorganismo por lo común es oxidasa negativo y positivo para la lisina descarboxilasa, la DNasa, y para la oxidación de la glucosa y la maltosa (de la que deriva su nombre "maltofilia").

S. maltophilia es una causa cada vez más importante de infecciones intrahospitalarias en pacientes que reciben tratamiento antimicrobiano y en quienes padecen inmunodepresiones. Se ha aislado de muchas regiones anatómicas, como secreciones del sistema respiratorio, orina, heridas y sangre. Las cepas suelen ser parte de la microbiota mixta presente en las muestras. Cuando los hemocultivos son positivos, esto suele deberse al empleo de catéteres intravenosos de plástico a permanencia.

S. maltophilia suele ser sensible a trimetoprim-sulfametoxazol y ticarcilina con ácido clavulánico y resistente a los otros antibióticos habituales frecuentes, como cefalosporinas, aminoglucósidos, imipenem y quinolonas. El uso generalizado de fármacos ante los cuales *S. maltophilia* es resistente tiene una repercusión importante en la frecuencia creciente con la cual produce enfermedad.

ACINETOBACTER

El género *Acinetobacter* comprende bacterias gramnegativas aerobias que tienen una amplia distribución en el suelo y el agua y que a veces se cultivan de piel, mucosas, secreciones y del medio hospitalario.

Acinetobacter baumannii es la especie que se aísla con más frecuencia. A veces se detectan *Acinetobacter lwoffii* y otras variedades. Algunas cepas no poseen todavía una denominación de especie y se les conoce como genomoespecies. Los microorganismos del género *Acinetobacter* suelen tener aspecto cocobacilar o de coco; se parecen a los gonococos en los frotis, pues predominan las formas diplocócicas en los líquidos corporales y en los medios sólidos. También se observan formas de bastón y, en ocasiones, las bacterias tienen aspecto grampositivo. *Acinetobacter* se multiplica bien en casi todos los tipos de medios que se utilizan para cultivar muestras de pacientes. A veces se confunde el género *Acinetobacter* obtenido de personas con meningitis y bacteriemia con *Neisseria meningitidis*; de forma similar, se ha confundido *Acinetobacter* aislado del aparato genital femenino con *Neisseria gonorrhoeae*. Sin embargo, los gonococos producen oxidasa, pero *Acinetobacter* no.

Acinetobacter a menudo es comensal, pero a veces genera infección intrahospitalaria. Se ha aislado *A. baumannii* de sangre, esputo, piel, líquido pleural y orina, por lo general en infecciones relacionadas con dispositivos. Los *Acinetobacter* que se identifican en neumonías intrahospitalarias a menudo provienen del agua de humidificadores ambientales o vaporizadores. En los pacientes con bacteriemias por este microorganismo, los catéteres intravenosos casi siempre son la fuente de la infección. En los enfermos con quemaduras o con inmunodepresiones, esta bacteria es un microorganismo oportunista y puede producir septicemia. Las cepas de *Acinetobacter* suelen mostrar resistencia a múltiples fármacos y es difícil tratar la infección. En muchos casos, la única sustancia activa es la colistina. Las cepas resistentes a múltiples fármacos constituyen una causa frecuente de infecciones graves de heridas en soldados lesionados de Irak. Es necesario llevar a cabo pruebas de sensibilidad para seleccionar el mejor antibiótico para el tratamiento. Las cepas más susceptibles de *Acinetobacter* reaccionan más a menudo a gentamicina, amikacina o tobramicina y a penicilinas o cefalosporinas de amplio espectro.

RESUMEN

- *P. aeruginosa* es un bacilo que no fermenta la glucosa, gramnegativo, con frecuencia pigmentado, y oxidasa positivo, que elabora enzimas como la elastasa y otros factores de virulencia que inducen enfermedad. Dicho microorganismo origina infecciones de muy diversa índole que van desde dermatosis superficiales, como la foliculitis de las tinas de hidromasaje hasta septicemia por gramnegativos y ectima gangrenoso en personas neutropénicas.
- *B. pseudomallei* se encuentra en el suelo y el agua del sudeste asiático y norte de Australia. La infección del ser humano con este microorganismo puede ser aguda, subaguda o crónica y afecta múltiples aparato y sistemas. Los CDC también lo consideran un agente de bioterrorismo de categoría B.
- El complejo de *B. cepacia* es un grupo de microorganismos del ambiente con relación muy estrecha superados sólo por *P. aeruginosa* como causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con CF.
- *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas maltophilia* son dos microorganismos que suelen aparecer en infecciones intrahospitalarias y que muestran enorme resistencia a fármacos. En algunos casos, el único agente activo en la infección por *Acinetobacter* resistente a múltiples fármacos, es la colistina.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un cultivo de esputo de un paciente con fibrosis quística revela *Pseudomonas aeruginosa* que forma colonias muy mucoides. ¿Cuál de las siguientes es una repercusión de esta observación?
   (A) *Pseudomonas aeruginosa* es muy susceptible al aminoglucósido tobramicina.

(B) *Pseudomonas aeruginosa* se infecta con una piocina (una bacteriocina).
(C) Las colonias son mucoides porque tienen cápsula de polisacárido de ácido hialurónico.
(D) El gen de la exotoxina A se ha desactivado y *Pseudomonas aeruginosa* ya no puede bloquear la síntesis de proteína de la célula hospedadora.
(E) *Pseudomonas aeruginosa* ha formado una biopelícula en las vías respiratorias del paciente.

2. Un bacilo gramnegativo ambiental, resistente a cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas, se ha convertido en un microorganismo patógeno intrahospitalario muy importante, lo cual en gran parte se debe a que se ha tornado resistente por el uso de estos antibióticos. Este bacilo gramnegativo puede tardar dos a tres días para multiplicarse y se debe diferenciar de *Burkholderia cepacia*, y es
(A) *Pseudomonas aeruginosa*
(B) *Acinetobacter baumannii*
(C) *Alcaligenes xylosoxidans*
(D) *Klebsiella pneumoniae*
(E) *Stenotrophomonas maltophilia*

3. Una joven de 17 años de edad con fibrosis quística tiene un leve incremento de su tos frecuente y producción de esputo mucoide. Se obtiene una muestra del esputo y se coloca en una placa con medios de cultivo habituales. Los microorganismos predominantes identificados son bacilos gramnegativos que forman colonias muy mucoides después de 48 h de incubación. Estos bacilos son oxidasa positivos, se multiplican a una temperatura de 42 °C y tienen un olor similar a las uvas. ¿Cuáles de los siguientes corresponden a estos bacilos gramnegativos?
(A) *Klebsiella pneumoniae*
(B) *Pseudomonas aeruginosa*
(C) *Staphylococcus aureus*
(D) *Streptococcus pneumoniae*
(E) *Burkholderia cepacia*

4. El esputo de la paciente de 26 años de edad con fibrosis quística también se coloca en placa con agar que contiene colistina. Después de 72 h de incubación, en el agar que contiene colistina, crecen bacilos gramnegativos que son oxidasa positivos pero por lo demás son difíciles de identificar. Este microorganismo es muy problemático. Se envía la muestra a un laboratorio de referencia para que se puedan utilizar métodos moleculares para identificar o descartar ¿cuál de los siguientes microorganismos?
(A) *Pseudomonas aeruginosa*
(B) *Burkholderia cepacia*
(C) *Haemophilus influenzae*
(D) *Pseudomonas putida*
(E) *Burkholderia pseudomallei*

5. Las especies de *Acinetobacter*:
(A) Se encuentran sólo en un ambiente intrahospitalario.
(B) Pueden parecerse a bacilos grampositivos.
(C) Pueden semejarse en cuanto a las características morfológicas a especies de *Haemophilus* en tinciones de Gram de secreciones endocervicales.
(D) Quizá sean causa importante de neumonía asociada con respirador en pacientes en la unidad de cuidados intensivos.
(E) Son susceptibles a la mayor parte de antibióticos.

6. Un bombero de 37 años de edad inhala humo y se le hospitaliza para darle apoyo con ventilación mecánica. Tiene tos intensa y comienza a expectorar un esputo purulento. La tinción de Gram de esta muestra de esputo tiene múltiples polimorfonucleares así como numerosos bacilos gramnegativos. El cultivo del esputo revela gran cantidad de bacilos gramnegativos que son oxidasa positivos, los cuales se multiplican bien a una temperatura de 42 °C. En el medio de agar transparente, éstos producen un color verde en el agar. El agar donde se localiza el color verde es fluorescente cuando se expone a luz ultravioleta. El microorganismo que está causando la infección del paciente es
(A) *Pseudomonas aeruginosa*
(B) *Klebsiella pneumoniae*
(C) *Escherichia coli*
(D) *Burkholderia cepacia*
(E) *Burkholderia pseudomallei*

7. El mecanismo de acción de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* es
(A) Activar la acetilcolina esterasa
(B) Bloquear el factor de elongación 2
(C) Formar poros en leucocitos e incrementar la permeabilidad a los cationes
(D) Incrementar el monofosfato de adenosina cíclico intracelular
(E) Desdoblar lecitina en fosforilcolina y diacilglicerol

8. Los pacientes con deficiencia de estas células están en riesgo alto de tener infecciones sistémicas graves por *Pseudomonas aeruginosa*:
(A) Eosinófilos
(B) Neutrófilos
(C) Macrófagos
(D) Células citolíticas naturales
(E) Células T CD4+

9. Una infante de marina herida en Afganistán regresó a su hogar parapléjica. Sus antecedentes médicos incluyen cirugía para amputar ambas piernas por debajo de la rodilla y la colocación de una sonda suprapúbica para reparar una lesión vesical. Ahora se encuentra en la clínica de pacientes extrahospitalarios de veteranos con una infección de vías urinarias recurrente que no ha respondido a los regímenes convencionales de antibioticoterapia para cistitis extrahospitalaria. Su orina es positiva a cocobacilos gramnegativos pequeños hinchados. Cuando se cultivó, este microorganismo no fermentó carbohidratos, no hidrolizó urea, no redujo nitratos y tampoco elaboró sulfuro de hidrógeno. El microorganismo que de modo muy probable cause la infección en esta infante de marina es:
(A) *Klebsiella oxytoca*
(B) *Escherichia coli*
(C) *Staphyllococcus saprophyticus*
(D) *Proteus mirabilis*
(E) *Acinetobacter baumanii*

10. Se diagnosticó ectima gangrenoso a un paciente neutropénico de 70 años de edad, tres días después de tener fiebre de 39 °C. Durante la noche, los hemocultivos que se iniciaron el día que tuvo la fiebre comenzaron a mostrar crecimiento de un bacilo gramnegativo aerobio estricto negativo a lactosa y positivo a oxidasa. ¿Cuál de los siguientes regímenes antibióticos sería el más apropiado para tratarlo?
(A) Tobramicina + piperacilina con tazobactam
(B) Vancomicina + metronidazol
(C) Cefazolina
(D) Tigeciclina
(E) Oxacilina

Respuestas

1. E	5. D	9. E
2. E	6. A	10. A
3. B	7. B	
4. B	8. B	

BIBLIOGRAFÍA

Galle M, Carpentier I, Beyaert R: Structure and function of the type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protein Peptide Sci* 2012;13:831.

Henry DA, Speert DP: *Pseudomonas*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

LiPuma JJ, *et al.*: *Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Cupriavidus, Pandoraea, Brevundimonas, Comamonas, Delftia*, and *Acidovorax*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Maschmeyer G, Göbel UB: *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* complex. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Pier GB, Ramphal R: *Pseudomonas aeruginosa*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Nemec A, *et al.*: *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

C A P Í T U L O

17

Vibrio, Campylobacter y Helicobacter

Las especies de los géneros *Vibrio, Campylobacter* y *Helicobacter* son bacilos gramnegativos que tienen una amplia distribución en la naturaleza. Los vibriones (especies del género *Vibrio*) se encuentran en aguas marinas y de superficie. Los *Campylobacter* se detectan en muchas especies de animales, incluidos varios animales domésticos. *Vibrio cholerae* produce la enterotoxina que causa el cólera, una diarrea líquida abundante que rápidamente puede desencadenar deshidratación y la muerte del paciente. *Campylobacter jejuni* es una causa frecuente de enteritis en el ser humano. *Helicobacter pylori* se ha relacionado con gastritis y úlcera duodenal.

VIBRIONES

Los vibriones son una de las bacterias más frecuentes en las aguas de superficie de todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos y móviles que poseen un flagelo polar. Los serogrupos de *V. cholerae* O1 y O139 producen cólera en el ser humano, en tanto que otros vibrios pueden ser causa de infecciones de tejidos blandos y piel, septicemia o enteritis. En el cuadro 17-1 se presentan los vibriones de importancia médica.

VIBRIO CHOLERAE

Las características epidemiológicas del cólera son muy parecidas al reconocimiento de la transmisión de *V. cholerae* en el agua y el desarrollo de sistemas sanitarios de agua.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En el aislamiento inicial, *V. cholerae* es un bacilo curvo de forma de coma de 2 a 4 μm de longitud (figura 17-1). Se mueve por medio de un flagelo polar. En el cultivo prolongado, los vibriones pueden convertirse en bacilos rectos que se parecen a las bacterias entéricas gramnegativas

B. Cultivo

V. cholerae produce colonias convexas, lisas y redondas que son opacas y granulosas en la luz transmitida. *V. cholerae* y la mayor parte de los demás vibriones se multiplican bien a una temperatura de 37 °C en muchas clases de medios, incluidos los medios definidos que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno. *V cholerae* muestra proliferación satisfactoria en agar de tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa **(TCBS, *thiosulfate-citrate-bile-sucrose*)**, un medio selectivo para los vibriones, en el que produce colonias amarillas (que fermentan la sacarosa) que se identifican fácilmente contra un fondo verde oscuro del agar. (Figura 17.2). Los vibriones son oxidasa positivos, lo que los distingue de las bacterias gramnegativas entéricas. Es característico que los vibriones se multipliquen a un pH muy alto (8.5 a 9.5) y que rápidamente sean destruidos por el ácido. Por lo tanto, los cultivos que contienen carbohidratos fermentables se vuelven estériles con rapidez.

En zonas donde el cólera es endémico, son apropiados los cultivos directos de las heces en medios selectivos, como el TCBS y cultivos enriquecidos en agua de peptona alcalina. Sin embargo, los coprocultivos sistemáticos en medios especiales como TCBS por lo general no son necesarios ni rentables en zonas donde es infrecuente el cólera.

C. Características de crecimiento

Por lo regular *V. cholerae* fermenta sacarosa y manosa pero no arabinosa. Una prueba de oxidasa positiva es un paso clave en la identificación preliminar de *V. cholerae* y otros vibriones. La mayor parte de las especies del género *Vibrio* son halotolerantes y el NaCl a menudo estimula su multiplicación. Algunos vibriones son halófilos y necesitan la presencia de NaCl para multiplicarse.

Estructura antigénica y clasificación biológica

Muchos vibriones comparten un solo antígeno H flagelar termolábil. Los anticuerpos contra el antígeno H probablemente no intervienen en la protección de los hospedadores susceptibles.

V. cholerae tiene lipopolisacáridos O que le confieren una especificidad serológica. Existen por lo menos 206 grupos de antígeno O. Las cepas de *V. cholerae* del grupo O1 y del grupo O139 producen el cólera característico; en ocasiones, los *V. cholerae* no O1/no O139 producen una enfermedad parecida al cólera. Los anticuerpos contra los antígenos O tienden a proteger a los animales de laboratorio contra las infecciones por *V. cholerae.*

El antígeno del serogrupo O1 de *V. cholerae* tiene determinantes que permiten una tipificación adicional; los serotipos son Ogawa, Inaba e Hikojima. Se han definido dos biotipos de *V. cholerae* epidémico, el clásico y El Tor. El biotipo El Tor produce una hemolisina, da resultados positivos en la prueba de Voges-Proskauer y es resistente a la polimixina B. También se pueden utilizar técnicas moleculares para tipificar *V. cholerae.* Se utiliza la tipificación para los estudios epidemiológicos y por lo general sólo se llevan a cabo las pruebas en laboratorios de referencia.

CUADRO 17-1 Vibriones de importancia médica

Microorganismo	Enfermedad en seres humanos
Vibrio cholerae serogrupos O1 y O139	Cólera epidémico y pandémico
Vibrio cholerae serogrupos no O1/no O139	Diarrea similar a cólera; diarrea leve; raras veces infecciones extraintestinales
Vibrio parahaemolyticus	Gastroenteritis, infecciones de heridas, septicemia
Vibrio vulnificus	Gastroenteritis, infecciones de heridas, septicemia

V. cholerae O139 es muy similar a *V. cholerae* O1 biotipo El Tor. *V. cholerae* O139 no produce el lipopolisacárido O1 ni tiene todos los genes necesarios para elaborar este antígeno. *V. cholerae* O139 elabora una cápsula de polisacárido, al igual que otras cepas de *V. cholerae* no O1, en tanto que *V. cholerae* O1 no sintetiza una cápsula.

Enterotoxina de *Vibrio cholerae*

V. cholerae produce una enterotoxina termolábil con un peso molecular (molecular weight [MW]) cercano a 84 000 que consta de subunidades A (MW 28 000) y B (capítulo 9). El gangliósido GM_1 actúa como receptor mucoso para la subunidad B, que favorece la entrada de la subunidad A en la célula. La activación de la subunidad A_1 genera mayores concentraciones de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP, *cyclic adenosine monophosphate*) intracelular y da por resultado una hipersecreción prolongada de agua y electrólitos. La secreción de cloruro dependiente de sodio aumenta, y la absorción de sodio y cloruro por parte de las microvellosidades muestra inhibición.

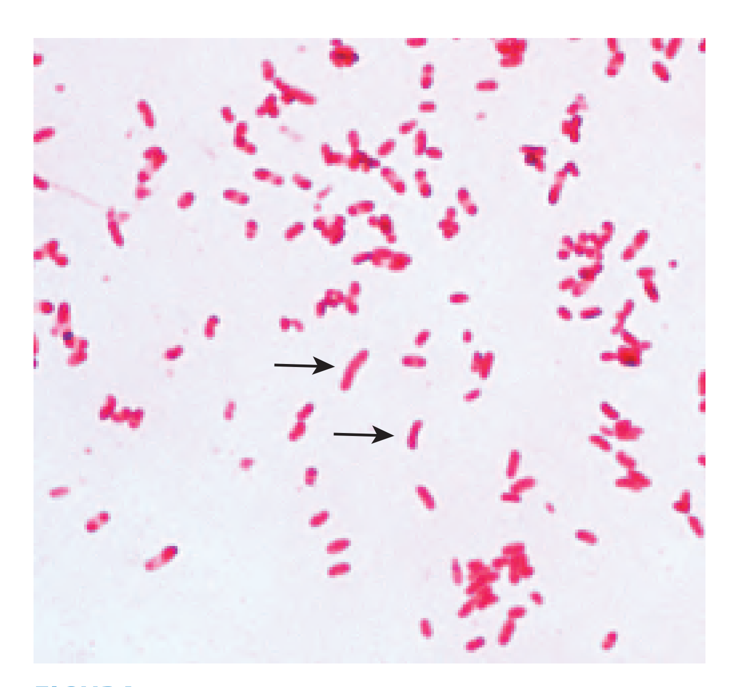


FIGURA 17-1 Tinción de Gram de *Vibrio cholerae*. A menudo tienen forma de coma o levemente curveados (*flechas*) y miden 1 × 2 a 4 μm. Aumento original × 1 000.

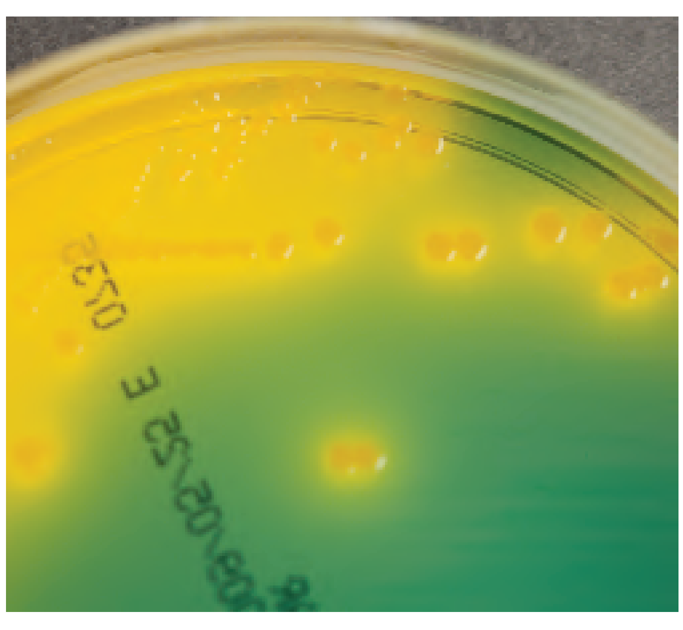


FIGURA 17-2 Colonias de *Vibrio cholerae* en agar de tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS). Las colonias de color amarillo brillante tienen un diámetro de 2 a 3 mm y están rodeadas por un color amarillo difuso del indicador en el agar de hasta 1 cm de diámetro. La placa tiene un diámetro de 10 cm.

Aparece diarrea con abundantes electrólitos (20 a 30 L/d); en consecuencia, el sujeto presenta deshidratación, choque, acidosis, lo que puede ocasionar la muerte. Los genes para la enterotoxina de *V. cholerae* se hallan en el cromosoma de la bacteria. La enterotoxina del cólera tiene una relación antigénica con LT de *Escherichia coli* y puede estimular la producción de anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, no está clara la función precisa de los anticuerpos antitóxicos y antibacterianos en la protección contra el cólera.

Patogenia y anatomía patológica

En condiciones naturales, *V. cholerae* es patógeno sólo para el ser humano. Una persona con acidez gástrica normal tiene que ingerir 10^{10} o más de *V. cholerae* para infectarse cuando el vehículo es agua, pues los microorganismos son susceptibles al ácido. Cuando el vehículo es alimento, se necesita un mínimo de 10^2 a 10^4 microorganismos por la capacidad amortiguadora del alimento. Todo fármaco o trastorno que disminuya la acidez gástrica vuelve a una persona más susceptible a la infección por *V. cholerae*.

El cólera no es una infección invasiva. Los microorganismos no llegan al torrente sanguíneo sino que permanecen en el tubo digestivo. Los microorganismos virulentos de *V. cholerae* se adhieren a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales. Ahí se multiplican y liberan la toxina del cólera y tal vez mucinasas y endotoxina.

Manifestaciones clínicas

Casi 50% de las infecciones por *V. cholerae* clásico son asintomáticas lo mismo que casi 75% de las infecciones por el biotipo El Tor.

apter 17_Carroll_4R.indd 254 14/04/16

El periodo de incubación es de 12 h a 3 días en personas que presentan síntomas, y ello depende en gran medida de la magnitud del inóculo ingerido. Hay inicio brusco de náusea y vómito y una diarrea abundante con cólicos abdominales. Las heces, que semejan "agua de arroz", contienen moco, células epiteliales y un gran número de vibriones. Hay una pérdida rápida de líquidos y electrólitos, lo cual lleva a una deshidratación intensa, colapso circulatorio y anuria. La tasa de mortalidad sin tratamiento es de 25 a 50%. El diagnóstico de un caso de cólera real no plantea problemas cuando hay una epidemia. Sin embargo, los casos esporádicos o leves no son fáciles de distinguir de otras enfermedades diarreicas. El biotipo El Tor tiende a producir enfermedad más leve que el biotipo clásico.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo consisten en muestras de moco de las heces.

B. Frotis

El aspecto microscópico de los frotis tomados de muestras fecales no es distintivo. La microscopia de campo oscuro o de contraste de fase puede mostrar los vibriones que se mueven rápidamente.

C. Cultivo

La multiplicación de los microorganismos es rápida en agar peptona, en agar con sangre con un pH cercano a 9.0 o en agar TCBS, y se pueden obtener colonias características en un lapso de 18 h. Para el enriquecimiento del medio, se pueden incubar algunas gotas de heces durante 6 a 8 h en caldo de taurocolato-peptona (pH 8.0 a 9.0); los microorganismos de este cultivo se pueden teñir o se pueden someter a subcultivo. La identificación precisa de los vibriones, incluido *V. cholerae,* por medio de sistemas comerciales y cuantificaciones con estuches de pruebas, es muy variable

D. Métodos específicos

La identificación de los microorganismos como *V. cholerae* mejora con métodos de aglutinación en portaobjetos, para los que se utilizan antisueros contra O1 o O139, y perfiles de reacciones bioquímicas. Según señalamientos, el diagnóstico de cólera en situación de campo se facilita con el uso de un método sensible y específico de inmunocromatografía por tira colorimétrica.

Inmunidad

El ácido gástrico confiere cierta protección contra los vibriones del cólera.

Un ataque de cólera va seguido de inmunidad contra la reinfección, pero se desconoce la duración y el grado de inmunidad. En los animales de experimentación, ocurren anticuerpos IgA específicos en la luz del intestino. Después de la infección se presentan en el suero anticuerpos similares, pero sólo duran algunos meses. Los anticuerpos vibriocidas en el suero (valoración $\geq$ 1:20) se han relacionado con protección contra la colonización y la enfermedad. La presencia de anticuerpos antitoxina no se ha relacionado con protección.

Tratamiento

La parte más importante del tratamiento consiste en la reposición de líquidos y electrólitos para corregir la deshidratación grave y la hiponatremia. Se han publicado diversas guías que incluyen las de la Organización Mundial de la Salud, sobre una rehidratación óptima; al final de este capítulo se enlistan referencias bibiográficas al respecto. Muchos antimicrobianos son eficaces contra *V. cholerae,* pero tienen una jerarquía secundaria en el tratamiento del paciente. La ingestión de tetraciclina y doxiciclina tiende a disminuir el volumen de las deposiciones diarreicas en el cólera y acortan el lapso de excreción de los vibriones. En algunas aéreas endémicas ha surgido resistencia de *V. cholerae* a la tetraciclina; los genes de resistencia son transportados por plásmidos transmisibles. En niños y embarazadas, en vez de las tetraciclinas cabe recurrir a la eritromicina y la furazolidina.

Epidemiología, prevención y control

Ocurrieron seis pandemias (epidemias en todo el mundo) de cólera entre 1817 y 1923, causadas muy posiblemente por *V. cholerae* O1 del biotipo clásico y en gran parte se originaron en Asia, por lo general en el subcontinente indio. La séptima pandemia comenzó en 1961 en las Islas Célebes de Indonesia, con diseminación a Asia, Medio Oriente y África. Esta pandemia fue causada por *V. cholerae* biotipo El Tor. La séptima pandemia, que comenzó en 1991, se propagó a Perú y luego a otros países de Sudamérica y Centroamérica. También se presentaron casos en África. En esta pandemia millones de personas han padecido cólera. Hay quienes consideran que el cólera causado por la cepa de serotipo O139 es la octava pandemia que comenzó en el subcontinente Indio en 1992 a 1993 con propagación a Asia. La enfermedad ha sido infrecuente en Norteamérica desde mediados de 1800, pero existe un foco endémico en la costa del Golfo de Louisiana y Texas.

El cólera es endémico en India y en el sureste de Asia. Desde estos centros, es transportado por las vías de embarque, rutas de comercio y rutas de migración de peregrinos. La enfermedad se disemina por el contacto de individuos con la enfermedad leve o inicial y por el agua, los alimentos y las moscas. En muchos casos, sólo 1 a 5% de las personas susceptibles expuestas desarrolla la enfermedad. El estado de portador pocas veces dura más de tres a cuatro semanas y no está clara la importancia de los portadores en la transmisión de la enfermedad. Los vibriones sobreviven en agua hasta por tres semanas.

En 2010 en Haití ocurrió un terremoto de 7 grados que devastó la infraestructura del país. Los rescatistas de las Naciones Unidas fueron invitados a las tareas de auxilio. Algunos de los invitados de países del sudeste asiático traían consigo *V. cholerae* O1, serotipo Ogawa, biotipo El Tor, que se introdujo en canales de agua usados por el pueblo como fuente de agua para beber, cocinar y bañarse. En consecuencia, cientos de miles de haitianos fueron infectados y el cólera ahora es endémico de esta nación caribeña.

V. cholerae vive en medios acuáticos y tales ambientes son el reservorio natural de los vibriones. *V. cholerae* vive adherido a algas, copépodos y conchas de crustáceos. Puede sobrevivir por años y multiplicarse, pero cuando las condiciones no son adecuadas para su multiplicación puede volverse latente.

El control se basa en la educación y en la mejora de las condiciones sanitarias, sobre todo del alimento y del agua. Se debe aislar a los pacientes, desinfectar sus excretas y realizar seguimiento a los contactos. La quimioprofilaxis con fármacos antimicrobianos puede ser útil. La inyección repetida de una vacuna que contenga lipopolisacáridos extraídos de vibriones o suspensiones densas de *Vibrio* puede conferir una protección limitada a las personas con una exposición intensa (p. ej., contactos familiares), pero no es una medida eficaz de control epidémico.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS Y VIBRIO VULNIFICUS

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria halófila que produce gastroenteritis aguda tras la ingestión de mariscos contaminados como pescado crudo o crustáceos. Tras un periodo de incubación de 12 a 24 h, se presentan náusea y vómito, cólicos abdominales, fiebre y diarrea líquida a sanguinolenta. A menudo se detectan leucocitos fecales. La enteritis tiende a desaparecer en forma espontánea en un lapso de uno a cuatro días sin otro tratamiento que no sea el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico. Hasta el momento no se ha aislado ninguna enterotoxina de este microorganismo. La enfermedad se produce a nivel mundial y su incidencia máxima se localiza en Asia y otras zonas en que las personas consumen pescado y mariscos crudos. *V. parahaemolyticus* no prolifera satisfactoriamente en algunos de los medios diferenciales utilizados para el cultivo de salmonelas y shigelas, pero su desarrollo es adecuado en agar sangre. También crece satisfactoriamente en TCBS, y en ese medio produce colonias verdes (no fermenta la sacarosa). *V. parahaemolyticus* suele identificarse porque produce oxidasa en agar sangre.

Vibrio vulnificus puede causar infecciones graves de heridas, bacteriemia y probablemente gastroenteritis. Es una bacteria de estuarios de vida libre, que existe en Estados Unidos en el Atlántico y las costas del Pacífico y sobre todo en la costa del Golfo. Se han comunicado infecciones en Corea, y el microorganismo puede tener una distribución mundial. Es muy posible que *V. vulnificus* se encuentre en ostiones, sobre todo en los meses cálidos. La bacteriemia sin un foco infeccioso ocurre en personas que han consumido ostiones infectados o en alcohólicos o hepatópatas. Las heridas pueden infectarse en personas normales o en inmunodeprimidos que entran en contacto con agua donde está presente la bacteria. La infección suele evolucionar con rapidez, con la aparición de una enfermedad grave. Casi 50% de los pacientes con bacteriemia fallece. Las infecciones de las heridas pueden ser leves pero a menudo evolucionan con rapidez (en el curso de algunas horas) presentándose lesiones cutáneas ampollosas, celulitis y miositis con necrosis. Varios de los primeros decesos en Louisiana y Texas después del huracán Catrina fueron ocasionados por *Vibrio vulnificus.* Dado el avance rápido de la infección, a menudo es necesario tratarla con antibióticos apropiados antes que se confirme la causa mediante cultivo. El diagnóstico se establece con el cultivo del microorganismo en medios estándar de laboratorio; TCBS es el medio preferido para los coprocultivos, donde la mayor parte de las cepas produce colonias color verde-azuloso (sacarosa negativas).

La tetraciclina al parecer es el antimicrobiano de elección para la infección por *V. vulnificus.* Ciprofloxacina también puede ser eficaz basándose en la actividad *in vitro.*

Verificación de conceptos

- Las especies de *Vibrio* son bacilos gramnegativos curvos, móviles, oxidasa-positivos y halófilos que se encuentran a nivel mundial en aguas superficiales.
- Muchas especies de *Vibrio* son patógenas de humanos, pero *V. cholerae* es la especie de mayor importancia global que ha causado pandemias de cólera. Se conocen más de 200 serotipos de *V. cholerae,* pero los serotipos O1 y O139 son los que más a menudo causan el cólera.
- *V. cholerae* O1 puede clasificarse todavía más en los biotipos clásico y El Tor; el primero ha sido el que ocasionó muchas de las grandes pandemias, y es muy probable que ocasione infecciones sintomáticas. El biotipo El Tor ocasionó la pandemia más reciente.
- *V. cholerae* produce una diarrea acuosa aguda tras la ingesta de grandes cantidades de tales gérmenes en agua o comida contaminadas, por la elaboración de enterotoxina termolábil que tiene la clásica estructura de toxina A-B. El segmento B se une a los receptores del gangliósido GM_1, y la subunidad activa A induce a cAMP, con lo cual se produce la secreción de cloruro de sodio y al mismo tiempo queda anulada su resorción por parte de las microvellosidades.
- El diagnóstico se confirma al cultivar heces en un medio selectivo como TCBS o caldo peptonado alcalino. El tratamiento comprende la rehidratación, y como medidas secundarias, el uso de tetraciclinas o doxiciclina.
- Otra especie importante de *Vibrio* es *V. parahaemolyticus,* la causa más frecuente de gastroenteritis de origen alimentario en Asia, y *V. vulnificus,* que origina septicemia intensa en pacientes cirróticos.

CAMPYLOBACTER

Los *Campylobacter* producen enfermedades diarreicas y generalizadas, además de figurar entre las causas más difundidas de infección en el mundo. La infección por *Campylobacter* de animales domésticos también es amplia. *Campylobacter jejuni* es el microorganismo prototípico del grupo y es una causa muy frecuente de diarrea en el ser humano.

CAMPYLOBACTER JEJUNI

C. jejuni han surgido como microorganismos patógenos humanos frecuentes y son causa principalmente de enteritis y a veces de infección generalizada. Estas bacterias son por lo menos tan frecuentes como las salmonelas y las shigelas como una causa de diarrea; en Estados Unidos se estima que cada año ocurren 2 millones de casos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

C. jejuni son bacilos gramnegativos con formas de coma, S, o de "ala de gaviota" (figura 17-3). Son móviles, con un solo flagelo polar y no forman esporas.

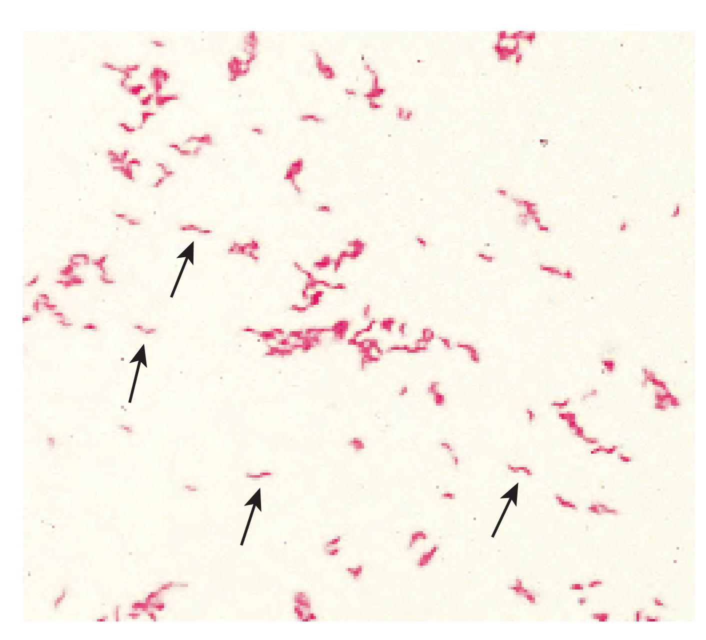


FIGURA 17-3 Tinción de Gram de *Campylobacter jejuni* que muestra los bacilos gramnegativos en forma de "coma" o "ala de gaviota" (*flechas*). Las campilobacterias se tiñen débilmente y pueden ser difíciles de visualizar. Aumento original × 1 000

B. Cultivo

Las características de cultivo son muy importantes para el aislamiento y la identificación de *C. jejuni*. Se necesitan medios selectivos y la incubación debe ser en una atmósfera con poco O_2 (O_2 al 5%) con CO_2 añadido (CO_2 al 10%). Una forma relativamente sencilla de producir la atmósfera de incubación es colocar las placas en un frasco para incubación de anaerobios sin el catalizador y producir el gas con un estuche generador de gas disponible en el comercio o mediante intercambio de gas. La incubación de las placas primarias para el aislamiento de *C. jejuni* debe ser a una temperatura de 42 °C. Aunque *C. jejuni* se multiplica bien a una temperatura de 36 a 37 °C, la incubación a una temperatura de 42 °C impide la proliferación de la mayor parte de las otras bacterias presentes en las heces y por lo tanto simplifica la identificación de *C. jejuni.* Se utilizan ampliamente varios medios selectivos. El medio de Skirrow contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprima, para inhibir la proliferación de otras bacterias, pero puede ser menos sensible que otros productos comerciales que contengan carbón vegetal, otros compuestos inhibidores y los antibióticos del tipo de las cefalosporinas. Las colonias tienden a ser incoloras o grises. Pueden ser acuosas y difusas o redondas y convexas y a veces los dos tipos de colonia aparecen en una placa con agar.

C. Características de crecimiento

Por los medios selectivos y las condiciones de incubación para su multiplicación, por lo general se necesita una serie breve de pruebas para la identificación. *C. jejuni* muestran positividad respecto a oxidasa y catalasa. Los *Campylobacter* no oxidan ni fermentan carbohidratos. Los frotis teñidos con tinción de Gram muestran características morfológicas típicas. La reducción con nitrato, la producción de sulfuro de hidrógeno, las pruebas de hipurato y las susceptibilidades a antimicrobianos se pueden utilizar para la identificación adicional de las especies.

Estructura antigénica y toxinas

Los campylobacter tienen lipopolisacáridos con actividad endotóxica. Se han detectado toxinas extracelulares citopáticas y enterotoxinas, pero no está bien definida la importancia de las toxinas en las enfermedades humanas.

Patogenia y anatomía patológica

El ser humano adquiere la infección por la vía bucal, por medio de alimentos, bebidas, o por contacto con animales infectados o sus productos, en particular aves de corral. *C. jejuni* es susceptible al ácido gástrico y por lo general se necesita la ingestión de aproximadamente 10^4 microorganismos para producir la infección. Este inóculo es similar al que se necesita para la infección por *Salmonella* y *Shigella* pero es inferior al necesario para la infección por *Vibrio.* Los microorganismos proliferan en el intestino delgado, invaden el epitelio y producen inflamación que da por resultado la aparición de eritrocitos y leucocitos en las heces. A veces, la circulación sanguínea es invadida y se presenta un cuadro clínico de fiebre intestinal. Al parecer la invasión de tejido circunscrito junto con la actividad tóxica son la causa de la enteritis.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas son el inicio agudo de dolor abdominal tipo cólico, diarrea abundante que puede ser microscópicamente sanguinolenta, cefaleas, malestar y fiebre. Por lo general la enfermedad cede espontáneamente en un periodo de cinco a ocho días, pero a veces continúa por más tiempo. Las cepas de *C. jejuni* suelen ser susceptibles a la eritromicina y el tratamiento acorta la duración de la expulsión de bacterias por las heces. Casi todos los casos muestran resolución sin antimicrobianos; sin embargo, en 5 a 10% de los pacientes reaparecen los síntomas. Algunos serotipos del *C. jejuni* se han vinculado con el síndrome de Guillain-Barre después de diarrea, y es una forma de enfermedad paralítica ascendente. Después de la diarrea aguda por *Campylobacter* se ha observado artritis reactiva y síndrome de Reiter.

Métodos diagnósticos de laboratorio

A. Muestras

La muestra de elección son las heces diarreicas. A veces se identifica *C. jejuni* en hemocultivos en sujetos inmunocomprometidos o en ancianos. Otras infecciones extraintestinales son poco frecuentes.

B. Frotis

Los frotis de las heces con tinción de Gram pueden mostrar los bacilos típicos en forma de "ala de gaviota". La microscopia de campo oscuro o de contraste de fase puede mostrar la movilidad rápida característica de los microorganismos.

C. Cultivo

El cultivo en los medios selectivos antes descritos es la prueba definitiva para diagnosticar enteritis por *C. jejuni.* Si se sospecha otra especie de *Campylobacter,* se debe utilizar el medio sin una cefalosporina e incubarse a una temperatura de 36 a 37 °C.

Epidemiología y control

La infección por *Campylobacter enteritis* se parece a otras diarreas bacterianas agudas, sobre todo la disentería por *Shigella*. La fuente de la infección puede ser el alimento (p. ej., leche, pollo mal cocido) o el contacto con animales infectados o seres humanos y sus excretas. Los brotes que se originan de una fuente común, por ejemplo, leche no pasteurizada, requieren medidas de control de salud pública.

HELICOBACTER PYLORI

H. pylori es un bacilo gramnegativo con forma curva o espiral. Ocasiona a veces gastritis del antro, enfermedad ulceropéptica duodenal, úlceras gástricas, adenocarcinoma gástrico y linfomas de tejido linfoide asociado a las mucosas gástricas (MALT, *mucosa-associated lymphoid tissue).*

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

H. pylori tiene muchas características en común con los campylobacters. Tiene múltiples flagelos en un polo y es móvil.

B. Cultivo

La sensibilidad en el cultivo puede limitarse por el tratamiento previo, la contaminación con otras bacterias de la mucosa y otros factores. *H. pylori* se multiplica en un lapso de tres a seis días cuando se incuba a una temperatura de 37 °C en un medio microaerofílico, al igual que *C. jejuni.* Los medios para el aislamiento primario son el medio de Skirrow con vancomicina, polimixina B y trimetoprim, medios de chocolate y otros medios selectivos con antibióticos (p. ej., vancomicina, ácido nalidíxico, anfotericina). Las colonias son translúcidas y tienen un diámetro de 1 a 2 mm.

C. Características de crecimiento

H. pylori es oxidasa y catalasa positivo, tiene una morfología característica, es móvil y es un productor potente de ureasa.

Patogenia y anatomía patológica

H. pylori se multiplica en condiciones óptimas a un pH de 6.0 a 7.0 y se destruiría o no se multiplicaría con el pH presente dentro de la luz gástrica. El moco gástrico es relativamente impermeable al ácido y tiene una potente capacidad amortiguadora. En el extremo luminal del moco, el pH es bajo (1.0 a 2.0), en tanto que en el lado epitelial el pH es de casi 7.4. *H. pylori* se aloja en partes profundas de la capa mucosa cerca de la superficie epitelial donde existe un pH fisiológico. *H. pylori* también produce una proteasa que modifica el moco gástrico y reduce más la capacidad del ácido para difundirse a través del moco. *H. pylori* tiene una potente actividad de ureasa, lo que genera amoniaco y amortigua más el ácido. *H. pylori* es muy móvil, incluso en moco, y puede abrirse camino hacia la superficie epitelial. El microorganismo se encuentra superpuesto a las células epiteliales de tipo gástrico pero no a las de tipo intestinal.

En voluntarios humanos, la ingestión de *H. pylori* produjo la aparición de gastritis e hipoclorhidria. Hay una intensa relación entre la infección por *H. pylori* y la ulceración duodenal. El tratamiento antimicrobiano produce la eliminación de *H. pylori* y mejora la gastritis y la úlcera duodenal.

Los mecanismos por los cuales *H. pylori* produce inflamación de la mucosa y lesión no están bien definidos pero probablemente implican factores tanto bacterianos como del hospedador. Las bacterias invaden las superficies de la célula epitelial en un grado limitado. Las toxinas y los lipopolisacáridos pueden lesionar las células de la mucosa y el amoniaco producido por la actividad de la ureasa también puede dañar directamente las células.

En el examen histológico, la gastritis se caracteriza por inflamación crónica y aguda. Se observan infiltrados de células polimorfonucleares y mononucleares dentro del epitelio y la lámina propia. Las vacuolas en el interior de las células suelen ser abundantes. Es frecuente la destrucción del epitelio y puede ocurrir atrofia glandular. Por consiguiente, *H. pylori* constituye un factor de riesgo importante para el cáncer gástrico.

Manifestaciones clínicas

La infección aguda puede producir una enfermedad del tubo digestivo alto con náusea y dolor; en ocasiones también hay vómito y fiebre. Los síntomas agudos pueden persistir durante menos de una semana o hasta por dos semanas. Una vez que ha colonizado, la infección por *H. pylori* persiste por años y tal vez decenios o incluso durante toda una vida. Casi 90% de los pacientes con úlceras duodenales y 50 a 80% de los que padecen úlceras gástricas tienen infección por *H. pylori.* Datos de estudios recientes confirman que *H. pylori* también constituye un factor de riesgo de que surjan carcinoma gástrico y linfoma.

Métodos diagnósticos de laboratorio

A. Muestras

Las muestras de biopsia de estómago se pueden utilizar para examen histológico, o ser fragmentadas finamente en solución salina y utilizadas para cultivo. La muestra de sangre se utiliza para identificar anticuerpos séricos. En las muestras de heces se puede detectar el antígeno de *H. pylori.*

B. Frotis

El diagnóstico de gastritis e infección por *H. pylori* se hace por técnicas histológicas. El método gastroscópico con biopsia es un paso necesario. Las tinciones de rutina demuestran la presencia de gastritis, y en tinciones con Giemsa y argéntica especial se identifica a los microorganismos curvos o de forma espiral.

C. Cultivo

Como se mencionó en párrafos anteriores, el cultivo se realiza cuando las personas no mejoran con el tratamiento y hay necesidad de valorar los perfiles de susceptibilidad.

D. Anticuerpos

Se han desarrollado varios análisis para detectar anticuerpos séricos específicos contra *H. pylori.* Los anticuerpos séricos

persisten aun cuando se erradique la infección por *H. pylori* y por lo tanto es limitado el papel de las pruebas de anticuerpo en el diagnóstico de la infección activa o después del tratamiento.

E. Pruebas especiales

Las pruebas rápidas para detectar actividad de ureasa tienen una amplia distribución para la identificación presuntiva de *H. pylori* en muestras. El material de biopsia gástrica se coloca en un medio que contenga urea con un indicador de color. Si está presente *H. pylori,* la ureasa rápidamente desdobla la urea (una a dos horas) y el cambio resultante en el pH produce un cambio de color en el medio. También se pueden realizar pruebas *in vivo* para la actividad de la ureasa. En el método para detectar urea en el aliento, el paciente ingiere urea marcada con ^{13}C o ^{14}C. Si *H. pylori* está presente, la actividad de la ureasa genera CO_2 marcado que se puede detectar en el aliento exhalado del paciente.

La detección de antígeno de *H. pylori* en las muestras fecales es apropiada como una prueba de curación en los pacientes con infección conocida por *H. pylori* que se han tratado.

Inmunidad

Los pacientes infectados por *H. pylori* presentan una respuesta de anticuerpo IgM a la infección. Después, se producen IgG e IgA y persisten, tanto generalizados como en la mucosa en valoraciones elevadas en las personas con infección crónica. El tratamiento antimicrobiano inicial de la infección por *H. pylori* reduce la respuesta de anticuerpos; se considera que estos pacientes están sujetos a una recidiva de la infección.

Tratamiento

El tratamiento triple con metronidazol y subsalicilato de bismuto o subcitrato de bismuto más amoxicilina o tetraciclina por 14 días permite erradicar la infección por *H. pylori* en 70 a 95% de los pacientes. Un fármaco supresor de ácido administrado durante cuatro a seis semanas favorece la cicatrización de la úlcera. Los inhibidores de la bomba de protones (PPI, *proton pump inhibitor*) inhiben directamente *H. pylori* y al parecer son potentes inhibidores de la ureasa. El tratamiento inicial preferido incluye 7 a 10 días con PPI y además amoxicilina y claritromicina o un régimen cuádruple de PPI, metronidazol, tetraciclina y bismuto durante 10 días.

Epidemiología y control

H. pylori está presente en la mucosa gástrica en menos de 20% de personas menores de 30 años, pero su prevalencia aumenta de 40 a 60% en quienes tienen 60 años, incluidos sujetos asintomáticos. En países en desarrollo, la prevalencia de la infección puede ser de 80% o más en adultos. Es posible la transmisión entre personas por el agrupamiento intrafamiliar. Las epidemias agudas de gastritis sugieren un origen común de *H. pylori.*

Verificación de conceptos

- Los campylobacters son microorganismos curvos o en espiral, oxidasa-positivos que a veces tienen una imagen de “alas de gaviota”. *C. jejuni* es el patógeno principal y a menudo se le vincula con la aparición de diarrea febril que a veces es sanguinolenta. El principal vehículo para la propagación de la infección son los alimentos contaminados, y en particular aves de corral.
- *Campylobacter jejuni* proliferan satisfactoriamente a 42°C en un entorno microaerófilo que tenga 5% de oxígeno y 10% CO_2. Por lo regular se utilizan medios selectivos que contienen antibiótico para identificar el microorganismo, de las heces.
- Las especies de *Helicobacter* incluyen patógenos curvos o en espiral. *H pylori* ocasiona enfermedades de las vías gastrointestinales superiores, como úlceras gástricas y duodenales, adenocarcinoma gástrico y linfomas MALT. Dicho microorganismo es ureasa-positivo, con lo cual queda protegido de la acidez estomacal. El diagnóstico se hace por diversos métodos como biopsia, identificación de urea en el aliento y antígeno en las heces. Para obtener buenos resultados se necesita en el tratamiento regímenes de tres o cuatro antibióticos que incluyen PPI.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Es más probable que se presente el estado de portador crónico y la eliminación del microorganismo después de la infección gastrointestinal por, ¿cuál de las siguientes especies?
   (A) *Escherichia coli* O157:H7
   (B) *Shigella dysenteriae*
   (C) *Vibrio cholerae*
   (D) *Campylobacter jejuni*
   (E) *Salmonella typhi*
2. Un varón de 63 años de edad ha visitado su restaurante de ostiones favorito en una pequeña ciudad de la orilla oriental de la costa del Golfo de Texas. Comió dos docenas de ostiones. Dos días más tarde ingresó al hospital por inicio brusco de escalofríos, fiebre y mareos al ponerse de pie. (En el servicio de urgencias, su presión arterial era 60/40 mmHg.) Mientras estaba en el servicio de urgencias, presentó lesiones cutáneas eritematosas. Éstas evolucionaron rápidamente a ampollas hemorrágicas, las cuales luego formaron úlceras. El paciente bebe seis latas de cerveza y media botella de whisky al día. Un microorganismo de interés importante en este paciente es
   (A) *Vibrio vulnificus*
   (B) *Escherichia coli*
   (C) *Salmonella typhi*
   (D) *Clostridium perfringens*
   (E) *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A)
3. Una familia de cuatro personas consumió una comida que incluía pollo mal cocido. A los tres días, tres miembros de la familia presentaron una enfermedad caracterizada por fiebre, cefalea, mialgias y ataque al estado general. Dos de los pacientes tenían diarrea y dolor abdominal concomitantes. La tercera persona presentó diarrea después de haber cedido los síntomas generales. Los coprocultivos produjeron *Campylobacter jejuni.* ¿Cuál de las siguientes condiciones de cultivo tenía más posibilidades de aislar *Campylobacter jejuni*?
   (A) Medio de tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa incubado a una temperatura de 37 °C en oxígeno al 5% y en CO_2 al 10 por ciento.
   (B) Medio selectivo de *Salmonella-Shigella* incubado a una temperatura de 37 °C en aire ambiental.

(C) Agar de MacConkey y agar entérico de Hektoen incubado a una temperatura de 42 °C en oxígeno al 5% y CO_2 a 10 por ciento.
(D) Agar con sangre de carnero al 5% incubado a una temperatura de 37 °C en aire ambiente.
(E) Un medio que contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a una temperatura de 42 °C en oxígeno al 5% y CO_2 al 10 por ciento.

4. ¿Con cuál de los siguientes microorganismos es más probable que se presente la bacteriemia relacionada con infección del tubo digestivo?

(A) *Salmonella typhi*
(B) *Vibrio cholerae*
(C) *Shigella boydii*
(D) *Vibrio parahaemolyticus*
(E) *Campylobacter jejuni*

5. Durante los años de El Niño de mediados a finales de la década de 1990, las aguas de Puget Sound entre el estado de Washington y British Columbia se calentaron considerablemente. Durante esta época, muchas personas que comían almejas y ostiones de estas aguas presentaron una enfermedad caracterizada por diarrea explosiva y cólicos moderadamente graves. La diarrea por lo general era líquida, pero en algunos pacientes era sanguinolenta. Por lo general tenía un inicio en las primeras 24 h después de consumir el marisco. Los coprocultivos solían producir un bacilo gramnegativo patógeno. En estas circunstancias el microorganismo de interés es

(A) *Escherichia coli enterotoxígena*
(B) *Vibrio cholerae*
(C) *Escherichia coli enterohemorrágica*
(D) *Vibrio parahaemolyticus*
(E) *Shigella dysenteriae*

6. Un paciente acude al servicio de urgencias con diarrea no sanguinolenta de 12 h de evolución. El paciente vive en Washington DC, y últimamente no ha viajado fuera de la zona. ¿Cuál de las siguientes es una causa *improbable* de la diarrea de este paciente?

(A) *Salmonella typhimurium*
(B) *Campylobacter jejuni*
(C) *Shigella sonnei*
(D) *Vibrio cholerae*
(E) *Escherichia coli*

7. Una mujer de 18 años de edad en una zona rural de Bangladesh presenta diarrea abundante (8 L/d). No tiene otros síntomas además de la diarrea y las manifestaciones de la pérdida de líquidos y electrólitos producidas por la diarrea. La causa más probable de su diarrea es

(A) *Campylobacter jejuni*
(B) *Escherichia coli enterotoxígena*
(C) *Salmonella typhimurium*
(D) *Vibrio cholerae*
(E) *Shigella dysenteriae*

8. La edad y la geografía son factores importantes en la prevalencia de la colonización por *Helicobacter pylori*. En los países en vías de desarrollo, la prevalencia de la colonización puede ser de > 80% en los adultos. En Estados Unidos, la prevalencia de la colonización por este microorganismo en los adultos mayores de 60 años de edad es

(A) 1 a 2%
(B) 5 a 10%
(C) 15 a 20%
(D) 40 a 60%
(E) 80 a 95%

9. Un varón de 59 años de edad acude al servicio de urgencias por la tarde después de presentar edema agudo y dolor en la pierna derecha. Por la mañana había estado trabajando en un pequeño bote de pesca deportiva en un estuario en la costa del Golfo de Texas. Mientras caminaba alrededor del bote en aguas superficiales, se rasguñó la pierna, hiriéndose la piel en el lugar del dolor y el edema que presenta en la actualidad. No utilizaba botas. Después de 1 h de la lesión, el rasguño se tornó eritematoso y doloroso. Se presentó edema. Al cabo de 3 h, la pierna por debajo de la rodilla tenía un edema importante. La piel estaba eritematosa y dolorosa. La herida presentaba una secreción serosa, se había ulcerado y ahora estaba muy aumentada de tamaño. Cerca de la herida se estaban formando ampollas, la más grande de aproximadamente 2.5 cm de diámetro. La causa más probable de esta urgencia médica es

(A) *Staphylococcus aureus*
(B) *Streptococcus pyogenes*
(C) *Clostridium perfringens*
(D) *Escherichia coli*
(E) *Vibrio vulnificus*

10. El factor de *Vibrio cholerae* causante de la diarrea es una toxina que

(A) Bloquea EF-2
(B) Produce mayores concentraciones de cAMP
(C) Desdobla SNARE
(D) Bloquea la fijación de amino-acil-tRNA a los ribosomas dependiente de EF-1
(E) Desdobla VAMP

11. En septiembre de 1854, se presentó una epidemia de cólera grave en la zona de Soho/Golden Square en Londres. El Dr. John Snow, padre de la epidemiología, estudió la epidemia y ayudó a detenerla. ¿Cuál de las siguientes medidas utilizó?

(A) Prohibió la venta de manzanas en los mercados locales
(B) Retiró el mango de la bomba de agua de Broad Street
(C) Detuvo la venta de mariscos importados de Normandía
(D) Pasteurizó la leche
(E) Promovió el lavado de vegetales que se consumían crudos

12. Varón de 45 años que presentó una úlcera gástrica visualizada en una radiografía del estómago, con medio de contraste. Se toma una biopsia de la mucosa gástrica en el lugar de la úlcera. ¿En cuál de los siguientes medios se puede establecer un diagnóstico presuntivo muy rápidamente mediante la inoculación de la muestra?

(A) Un medio utilizado para detectar ureasa incubado a una temperatura de 37 °C
(B) Un medio que contenga vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a una temperatura de 42 °C
(C) Agar de MacConkey incubado a una temperatura de 37 °C
(D) Medio de tiosulfato–citrato–sales biliares–sacarosa incubado a una temperatura de 42 °C
(E) Agar con sangre incubado a una temperatura de 37 °C

Respuestas

1. E	5. D	9. E
2. A	6. D	10. B
3. E	7. D	11. B
4. A	8. D	12. A

BIBLIOGRAFÍA

Abbott SL, Janda JM, Johnson JA Farmer JJ III: *Vibrio*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Allos BM, Blaser MJ: *Campylobacter jejuni* and related species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Blaser MJ: *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Fitzgerald C, Nachamkin I: *Campylobacter* and *Arcobacter*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Horneman AJ, Ali A: *Aeromonas*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Lawson AJ: *Helicobacter*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Neill MA, Carpenter CCJ: Other pathogenic vibrios. En Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Seas C, DuPont HL, Valdez LM, Gotuzzo E: Practical guidelines for the treatment of cholera. *Drugs* 1996;51:966-973.

Seas C, Gotuzzo E: *Vibrio cholerae*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Wang XY, Ansaruzzaman M, Vaz R, *et al.*: Field evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick test for the diagnosis of cholera in a high-risk population. *BMC Infect Dis* 2006;6:17.

World Health Organization: *Guidelines for Cholera Control*. Geneva: World Health Organization, 1992.

CAPÍTULO

18

Haemophilus, Bordetella, Brucella y Francisella

BACTERIAS DEL GÉNERO *HAEMOPHILUS*

Este es un grupo de pequeñas bacterias pleomórficas gramnegativas que necesitan medios enriquecidos, por lo general que contengan sangre o sus derivados, para su aislamiento. *Haemophilus influenzae* es un patógeno importante para el ser humano; *Haemophilus ducreyi*, un patógeno de transmisión sexual, ocasiona el chancroide; otras seis especies de *Haemophilus* pertenecen a la microbiota normal de las mucosas y sólo en ocasiones causan enfermedad. *Haemophilus aphrophilus* y *Haemophilus paraphrophilus* se han combinado en una sola especie llamada *Aggregatibacter aphrophilus;* en forma similar, *Haemophilus segnis* es ahora miembro del género *Aggregatibacter* (cuadro 18-1).

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Haemophilus influenzae aparece en las mucosas de las vías respiratorias altas del ser humano. Es causa importante de meningitis en niños sin vacunar y origina infecciones de las vías respiratorias altas y bajas de niños y adultos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En muestras obtenidas durante infecciones agudas se advierte que los microorganismos son cocobacilos cortos (1.5 μm) que aparecen a veces en parejas o en cadenas cortas. En los cultivos, la morfología depende de la duración de la incubación y del medio de cultivo. A las 6 a 8 h en un medio enriquecido, predominan las formas cocobacilares pequeñas. Más tarde hay bacilos más largos, bacterias que experimentan lisis y muchas variantes pleomórficas.

Algunos microorganismos en cultivos jóvenes (6 a 18 h) en un medio enriquecido tienen una cápsula definida. La cápsula es el antígeno que se utiliza para la "tipificación" de *H. influenzae* (véase adelante).

B. Cultivo

En agar chocolate se presentan colonias planas de color pardo grisáceo con diámetros de 1 a 2 mm después de 24 h de incubación. IsoVitaleX en los medios de cultivo favorece la proliferación. *H. influenzae* no se multiplica en agar sangre de cordero, excepto alrededor de colonias de estafilococos ("fenómeno satélite"). *Haemophilus haemolyticus* y *Haemophilus parahaemolyticus* son variantes hemolíticas de *H. influenzae* y *Haemophilus parainfluenzae,* respectivamente.

C. Características de crecimiento

La identificación de los microorganismos del grupo *Haemophilus,* depende, en parte, de demostrar la necesidad de algunos factores de crecimiento llamados X y V. El factor X tiene una acción fisiológica parecida a la hemina; el factor V se puede reemplazar con nucleótido de nicotinamida y adenina (NAD, *nicotinamide adenine nucleotide*) u otras coenzimas. Las colonias de estafilococos en agar sangre de oveja producen la liberación de NAD y generan el fenómeno de crecimiento satélite. En el cuadro 18-1 se enumeran las necesidades de factores X y V de diversas especies del género *Haemophilus.* La fermentación de carbohidratos ayuda a identificar la especie al igual que la presencia o ausencia de hemólisis.

Además de la serotipificación con base en los polisacáridos capsulares (véase más adelante), es posible biotipificar *H. influenzae y H. parainfluenzae* por la producción de indol, ornitina descarboxilasa y ureasa. Muchas de las infecciones invasoras causadas por *H. influenzae* pertenecen a las biotipos I y II (hay un total de ocho).

Estructura antigénica

H. influenzae encapsulado contiene **polisacáridos capsulares** (peso molecular > 150 000) de uno de seis tipos (a a f). El antígeno capsular tipo b es un fosfato de ribosa de polirribitol (PRP, *polyribitol ribose phosphate*). *H. influenzae* encapsulado puede ser tipificado por aglutinación en laminillas, coaglutinación con estafilococos o aglutinación de partículas de látex recubiertas de anticuerpos con especificidad de tipo. El método de tumefacción capsular por medio de un suero específico es análogo al de la prueba de quellung en neumococos. La tipificación también se puede realizar por inmunofluorescencia. Casi ninguno de los microorganismos de la especie *H. influenzae* de la microbiota normal de las vías respiratorias altas está encapsulado y se denominan no tipificables (NTHi).

Los antígenos somáticos de *H. influenzae* constan de proteínas de membrana externa. Los lipopolisacáridos (endotoxinas) tienen muchas estructuras de las neisserias.

Patogenia

H. influenzae no produce exotoxina. El microorganismo no encapsulado es un miembro regular de la microflora respiratoria normal del ser humano. La cápsula es antifagocítica cuando no hay anticuerpos anticapsulares específicos. La cápsula de fosfato de polirribosa de *H. influenzae* tipo b es el principal factor de virulencia.

apter 18_Carroll_4R.indd 263 14/04/16

CUADRO 18-1 Características y necesidades para la proliferación de especies de *Haemophilus* y *Aggregatibacter* importantes para el ser humano

Especie	Necesita X	Necesita V	Hemólisis
Haemophilus influenzae (H. aegyptius)	+	+	–
Haemophilus parainfluenzae	–	+	–
Haemophilus ducreyi	+	–	–
Haemophilus haemolyticus	+	+	+
Aggregatibacter aphrophilus[a]	–	+/–	–
Haemophilus paraphrophaemolyticus	–	+	+
Haemophilus segnis[b]	–	+	–

X, hemo; V, dinucleótido de nicotinamida y adenina.

[a] Antes denominados *Haemophilus aphrophilus y Haemophilus paraphrophilus*

[b] Antes denominado *Haemophilus segnis*

La frecuencia de portador de *H. influenzae* tipo b en las vías respiratorias altas era de 2 a 5% en la época anterior a las vacunas; en la actualidad es menor a 1%. La frecuencia de portador de *H. influenzae* no tipificable es de 50 a 80% o más. *H. influenzae* tipo b origina meningitis, neumonía, empiema, epiglotitis, celulitis, artritis séptica y en ocasiones otras formas de infección invasora. *H. influenzae* no tipificable tiende a ocasionar bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis después de que han disminuido los mecanismos de defensa normales del hospedador. La tasa de portador de los tipos encapsulados a y c a f es baja (1 a 2%) y estos tipos capsulares pocas veces producen enfermedad. Aunque el tipo b puede ser causa de bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis, las produce con menor frecuencia que *H. influenzae* no tipificable. Asimismo, *H. influenzae* no tipificable sólo a veces produce enfermedad invasiva (alrededor de 5% de los casos).

Manifestaciones clínicas

H. influenzae tipo b entra por el aparato respiratorio. Puede haber una diseminación local con afectación de los senos paranasales o el oído medio. *H. influenzae*, en su mayor parte no tipificable, y los neumococos constituyen dos de los microorganismos etiológicos más frecuentes de otitis media bacteriana y sinusitis aguda. Las infecciones de vías respiratorias bajas, como bronquitis y neumonía, pueden observarse en pacientes con padecimientos que disminuyen la depuración mucociliar. Es el caso del tabaquismo, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la fibrosis quística. Los microorganismos encapsulados pueden llegar a la circulación sanguínea y ser transportados a las meninges, o con menor frecuencia pueden residir en las articulaciones al grado de producir artritis séptica. Antes del uso de la vacuna conjugada, *H. influenzae* tipo b constituía la causa más frecuente de meningitis bacteriana en niños de cinco meses a 10 años de edad en Estados Unidos. Se parece clínicamente a otras formas de meningitis infantil y el diagnóstico se basa en la demostración bacteriológica del microorganismo.

A veces se presenta una laringotraqueítis obstructiva fulminante con epiglotis edematosa y de color rojo cereza en los niños muy pequeños que obliga a una traqueostomía inmediata o intubación como procedimiento para salvar la vida del paciente. La neumonitis y la epiglotitis por *H. influenzae* pueden presentarse después de infecciones en las vías respiratorias altas en niños pequeños, así como en ancianos o en personas debilitadas. Los adultos pueden tener bronquitis o neumonía a consecuencia de *H. influenzae*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden esputo expectorado y otros tipos de material de vías respiratorias, pus, sangre y líquido cefalorraquídeo para frotis y cultivos según el origen de la infección.

B. Identificación directa

Se cuenta con estuches comerciales para la detección inmunológica de antígenos de *H. influenzae* en el líquido cefalorraquídeo. Estas pruebas de detección de antígeno por lo común no son más sensibles que una tinción de Gram, y en consecuencia, no se les usa de manera generalizada, en particular porque la incidencia de meningitis por *H. influenzae* es baja. No se recomienda su uso, excepto bajo condiciones de recursos limitados donde la prevalencia de la enfermedad sigue siendo alta. En la figura 18-1 se muestra una tinción de Gram de *H. influenzae* en esputo. En algunos laboratorios se han creado métodos de amplificación de ácidos nucleicos que pronto podrían estar disponibles en el comercio para la detección directa de infecciones en LCR y vías respiratorias bajas.

C. Cultivo

Se cultivan las muestras en agar chocolate enriquecido e Iso-VitaleX hasta que aparecen las colonias características (véase antes). *H. influenzae* se diferencia de los bacilos gramnegativos relacionados por sus necesidades de factores X y V, y por su falta de hemólisis en agar sangre (cuadro 18-1).

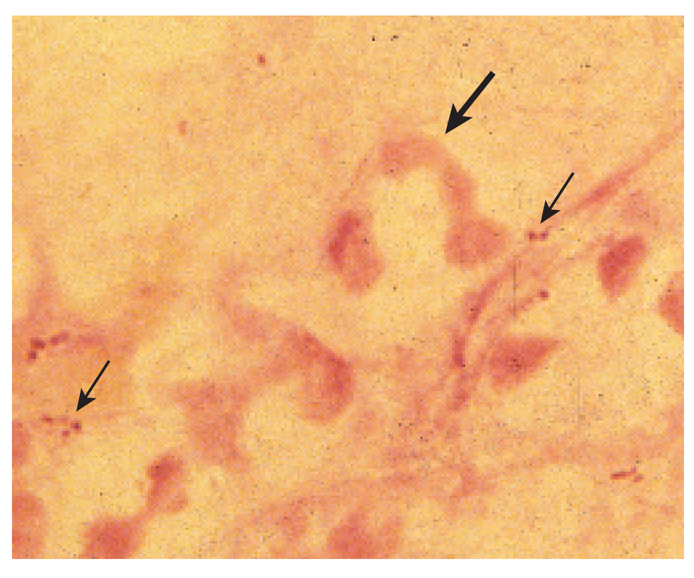


FIGURA 18-1 Tinción de Gram de *Haemophilus influenzae* en el esputo. Los microorganismos son cocobacilos gramnegativos (*flechas pequeñas*) muy pequeños (0.3 × 1 μm). Los objetos grandes de forma irregular (*flecha grande*) son los núcleos de las células polimorfonucleares. El moco está débilmente teñido de rosa en el fondo.

Las pruebas para conocer las necesidades de factor X (hem) y V (dinucleótido de nicotinamida y adenina) pueden realizarse de diversas maneras. Las bacterias del género *Haemophilus* que necesitan factor V proliferan alrededor de tiras de papel o discos que contienen factor V colocado en la superficie de agar que se han procesado en autoclave antes de añadir la sangre (el factor V es termolábil). También se puede colocar una tira que contenga factor X en paralelo con otra que contenga factor V en agar deficiente en estos nutrimentos. La proliferación de *Haemophilus* en la zona de respuesta entre las tiras indica la necesidad de los dos factores. Una mejor prueba para conocer la necesidad de factor V se basa en la imposibilidad de *H. influenzae* (y algunas otras especies del género *Haemophilus*) de sintetizar hem a partir del ácido δ-aminolevulínico. El inóculo se incuba con ácido δ-aminolevulínico. Los microorganismos del género *Haemophilus* que no necesitan factor X sintetizan porfobilinógeno, porfirinas, protoporfirina IX y hemo. La presencia de fluorescencia roja bajo la luz ultravioleta (aproximadamente 360 nm) indica que hay porfirinas y es una prueba positiva. Las bacterias del género *Haemophilus* que sintetizan porfirinas (y, por lo tanto, hem) no son *H. influenzae* (cuadro 18-1).

Inmunidad

Los lactantes menores de tres meses pueden tener anticuerpos séricos transmitidos por la madre. Durante este periodo es poco frecuente la infección por *H. influenzae,* pero después se pierden los anticuerpos. Los niños a menudo adquieren infecciones por *H. influenzae,* que suelen ser asintomáticas pero que pueden adoptar la forma de enfermedades respiratorias o meningitis. *H. influenzae* era la causa más frecuente de meningitis bacteriana en niños de cinco meses a cinco años de vida hasta el comienzo de la década de 1990, en que se pudo contar con las vacunas a base de conjugados (véanse los comentarios siguientes). Entre los tres y cinco años de edad, muchos niños no inmunizados adquieren de forma natural anticuerpos contra PRP que favorecen la destrucción bactericida dependiente de complemento y la fagocitosis. La inmunización de los niños con vacuna conjugada de *H. influenzae* tipo b induce a la formación de los mismos anticuerpos.

Existe una correlación entre los anticuerpos bactericidas presentes y la resistencia a las infecciones importantes por *H. influenzae* tipo b. Sin embargo, no se sabe si estos anticuerpos en sí contribuyen a la inmunidad. Los adultos con estos anticuerpos pueden presentar neumonía o artritis por *H. influenzae.*

Tratamiento

La tasa de mortalidad de la meningitis por *H. influenzae* no tratada puede ascender a 90%. Muchas cepas de *H. influenzae* tipo b son susceptibles a la ampicilina, pero hasta 25% produce lactamasa β bajo control de un plásmido transmisible y son resistentes. En esencia todas las cepas son susceptibles a las cefalosporinas de tercera generación y carbapenems. La cefotaxima administrada por vía intravenosa produce resultados excelentes. El diagnóstico inmediato y el tratamiento antimicrobiano son esenciales para disminuir la alteración neurológica e intelectual tardía. Entre las complicaciones tardías de la meningitis por *H. influenzae* tipo b destacan la aparición de una acumulación subdural circunscrita de líquido que exige drenaje quirúrgico. Se ha calculado que en Estados Unidos hasta 27% de NTHi también produce β lactamasas.

Epidemiología, prevención y control

H. influenzae tipo b encapsulado se transmite entre personas por vía respiratoria. La infección por *H. influenzae* tipo b puede prevenirse con la administración de la **vacuna conjugada de *Haemophilus* b** aplicada a los niños. En la actualidad, hay tres vacunas conjugadas monovalentes de proteína con polisacárido PRP (polisacárido vinculado al complejo de proteína de membrana externa) en el mercado estadounidense. PRP-OMP (PedvaxHIB, Merck and Co., Inc), PRP-T (ActHIB, Sanofi Pasteur, Inc.) y PRP-T (Hiberix, GlaxoSmithKline). En PRP-OMP, el complejo de proteína de membrana externa del serogrupo B de *Neisseria meningitidis* es el conjugado de proteína, en tanto que el PRP-T es el toxoide tetánico. Hay también tres vacunas de combinación que contienen vacuna conjugada tipo b de *H. influenzae*. Son éstas: PRP-OMP-Hep B (Merck and Co., Inc.), DTaP-IPV/PRP-T (difteria, tosferina acelular y virus de poliomielitis inactivado se agregan a PRP-T; Sanofi Pasteur) y MenCY/PRP-T (vacuna C y Y meningocócica agregada a PRP-T; GlaxoSmithKline). El lector puede consultar una exposición más completa sobre estas vacunas en la referencia de Briere. Es necesario administrar algunas de las vacunas de conjugados a todos los niños a partir de los dos meses de vida. De acuerdo con la vacuna escogida, la serie comprenderá tres dosis a los dos, cuatro y seis meses de vida o dos dosis aplicadas a los dos y cuatro meses de edad. Se aplica una dosis de refuerzo entre los 12 y los 18 meses de edad. Las vacunas monovalentes se pueden administrar en el momento de aplicar otras vacunas, como DTaP (difteria, tétanos y tos ferina acelular). El empleo generalizado de la vacuna a base de *H. influenzae* tipo b ha disminuido la incidencia de meningitis por dicho microorganismo en más del 95% en los niños. La vacuna también disminuye las frecuencias de portador por el mismo germen.

El contacto con sujetos con infección clínica por *H. influenzae* tipo b conlleva escaso riesgo para los adultos, pero constituye un peligro evidente para los hermanos no inmunes y otros niños en igual condición menores de cuatro años que mantengan contacto muy cercano. A estos niños se recomienda la profilaxia con rifampicina.

HAEMOPHILUS AEGYPTIUS

El microorganismo conocido antes como bacilo de Koch-Weeks ocasionaba una forma de conjuntivitis muy contagiosa en niños. *H. aegyptius* es muy similar a *H. influenzae* tipo III, que es el microorganismo causal de la fiebre purpúrica del Brasil; esta última es una enfermedad de niños que se caracteriza por fiebre, púrpura, choque y muerte. En épocas pasadas se atribuían equivocadamente estas infecciones a *H. aegyptius.*

AGGREGATIBACTER APHROPHILUS

Los microorganismos de las especies *H. aphrophilus* y *H. paraphrophilus* se han combinado en la misma especie con el nuevo nombre de *Aggregatibacter aphrophilus.* Al género *Aggregatibacter* se han sumado otros como *H. segnis* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans.* A menudo se detectan cepas de *A. aphrophilus* como causas de endocarditis infecciosa y neumonía. Estos microorganismos aparecen en la cavidad bucal como parte de la

microbiota normal de vías respiratorias junto con otros miembros del grupo HACEK (*especies de Haemophilus, Actinobacillus/Aggregatibacter, Cardiobacterium hominis, Eikenella corrodens* y *Kingella kingae*) (capítulo 16).

HAEMOPHILUS DUCREYI

Haemophilus ducreyi produce el chancroide (chancro blando), una enfermedad de transmisión sexual. El chancroide consiste en una úlcera rasgada en los genitales, con edema e hiperalgesia intensos. Los ganglios linfáticos regionales están aumentados de tamaño y son dolorosos. La enfermedad debe distinguirse de la sífilis, la infección por el herpes simple y el linfogranuloma venéreo.

Los bacilos gramnegativos pequeños se encuentran en cordones en las lesiones, por lo general acompañados de otros microorganismos piógenos. *H. ducreyi* necesita factor X pero no factor V. Éstos proliferan mejor si se usan raspaduras de la base de la úlcera que se inoculan en agar chocolate que contenga 1% de IsoVitaleX y vancomicina, a razón de 3 μg/ml; el agar se incuba en un medio con CO_2 al 10% a 33 °C. Los métodos de amplificación de ácido nucleico son más sensibles que el cultivo. No se obtiene inmunidad permanente contra la infección por chancroide. El tratamiento recomendado por los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) es 1 g de azitromicina por vía oral. Otros regímenes incluyen ceftriaxona intramuscular, ciprofloxacina o eritromicina orales; la persona cura en dos semanas.

OTRAS BACTERIAS DEL GÉNERO *HAEMOPHILUS*

Haemophilus haemolyticus es el microorganismo más marcadamente hemolítico del grupo *in vitro*; se distribuye tanto en la nasofaringe normal como en relación con infecciones poco comunes de las vías respiratorias superiores de gravedad moderada en los niños. *Haemophilus parainfluenzae* se parece a *H. influenzae* y es un residente normal del aparato respiratorio humano; se ha detectado de manera esporádica en la endocarditis infecciosa y en la uretritis.

Verificación de conceptos

- Las especies de *Haemophilus* son bacilos gramnegativos pleomórficos que necesitan factores X (hemina), V (NAD), o ambos, para proliferar. Un número importante de especies de este género colonizan las vías respiratorias altas de los seres humanos.
- *H. influenzae* es el principal patógeno del grupo, y sus cepas encapsuladas, en particular el serotipo b, son más virulentas y causan enfermedades más invasoras, como bacteriemia y meningitis en personas sin protección.
- La enfermedad por *H. influenzae* tipo b alguna vez constituyó una causa importante de muerte y complicaciones en niños, pero en la actualidad es rara en países industrializados, en que se practica sistemáticamente la vacunación de los menores con una de las dos vacunas de conjugados.
- Se han combinado *H. aphrophilus y H. paraphrophilus* en un solo género y especie, *A. aphrophilus*. Otros miembros del género *Aggregatibacter* son *A. actinomycetemcomitans* y *A. segnis*. Ambos microorganismos pueden ocasionar infecciones diversas que incluyen endocarditis.
- *H. ducreyi* está vinculada con el chancroide, enfermedad de transmisión sexual.

BORDETELLA

Hay varias especies del género *Bordetella*. *Bordetella pertussis,* un microorganismo patógeno muy contagioso e importante en el ser humano, produce tos ferina. *Bordetella parapertussis* puede producir una enfermedad muy similar. *Bordetella bronchiseptica* (*Bordetella bronchicanis*) produce enfermedad en animales como la tos de los perros y de los conejos, y sólo a veces produce enfermedad respiratoria y bacteriemia en el ser humano. Especies más nuevas y sus relaciones con enfermedades comprenden *Bordetella hinzii* (bacteriemia y enfermedad respiratoria, artritis). *Bordetella holmseii* (bacteriemia en pacientes inmunodeprimidos) y *B. trematum* (heridas y otitis media). *B. pertussis, B. parapertussis* y *B. bronchiseptica* se relaciona muy de cerca y tienen una homología de DNA de 72 a 94% y diferencias muy limitadas en el análisis enzimático multilocus; las tres especies podrían considerarse tres subespecies dentro de una especie.

BORDETELLA PERTUSSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los microorganismos son cocobacilos gramnegativos diminutos que se parecen a *H. influenzae*. Contienen una cápsula.

B. Cultivo

El aislamiento primario de *B. pertussis* exige medios enriquecidos. Se puede usar el medio de Bordet-Gengou (agar papa-sangre-glicerol) que contiene 0.5 μg de penicilina G/ml; sin embargo, es preferible el medio con carbón vegetal complementado con sangre equina, cefalexina y anfotericina B (de Regan Lowe) por el mayor tiempo de validez del producto. Las placas son incubadas de 35 a 37 °C durante tres a siete días en un medio aerobio dentro de un entorno húmedo (una bolsa sellada de plástico). Los pequeños bacilos gramnegativos que apenas captan el colorante se identifican por medio de tinción de inmunofluorescencia. *B pertussis* no es móvil.

C. Características de crecimiento

El microorganismo es un aerobio estricto y muestra positividad a la oxidasa y la catalasa, pero negatividad a nitrato, citrato y urea; los resultados de tales estudios ayudan a distinguir entre las demás especies de bordetella. No necesita de factores X ni V para subcultivo.

Estructura antigénica, patogenia y anatomía patológica

B. pertussis produce diversos factores que intervienen en la patogenia de la enfermedad. Un locus en el cromosoma de *B. pertussis* hace las veces de un regulador central de los genes de virulencia. Este locus tiene dos *operones de Bordetella,* ***bvgA*** y ***bvgS***.

Los productos de los loci A y S son similares a los de los sistemas del regulador de dos componentes conocidos. *bvgS* reacciona a señales del entorno, y *bvgA* es un activador transcriptivo de los genes de virulencia. La **hemaglutinina filamentosa**, una proteína grande de superficie y las fimbrias (apéndices de superficie) median la adhesión a células epiteliales ciliadas y son esenciales para la colonización de la tráquea. La **toxina de la tos ferina** (una toxina clásica con estructura A/B) estimula la linfocitosis, la sensibilización a histamina y el aumento de la secreción de insulina mediante la actividad de ribosilación de difosfato de adenosina que interrumpe la función de la transducción de señal en muchos tipos celulares. La hemaglutinina filamentosa y la toxina de la tos ferina son proteínas secretadas y se encuentran fuera de las células de *B. pertussis.* La **toxina de la adenilato ciclasa**, la **toxina dermonecrótica** y la **hemolisina** también son reguladas por el sistema *bvg.* La ACT es un factor importante de virulencia que inhibe la función fagocítica, pero no se conoce la importancia de DNT en la tos ferina. La **citotoxina traqueal** no es regulada por *bvg* y lisa *in vitro* las células del epitelio de vías respiratorias. El lipopolisacárido presente en la pared celular también es importante como causa de lesión de las células epiteliales de las vías respiratorias altas.

B. pertussis sobrevive sólo durante breves periodos fuera del hospedador humano. No hay vectores. La transmisión en gran parte es por la vía respiratoria de casos en etapas iniciales y posiblemente a través de portadores. El microorganismo se adhiere a la superficie epitelial de la tráquea y los bronquios, y se multiplica en forma rápida e interfiere en la acción ciliar. No hay invasión de la sangre. La bacteria libera las toxinas y las sustancias que irritan las células de la superficie, lo que produce tos y linfocitosis importante. Después, puede haber necrosis de partes del epitelio e infiltración polimorfonuclear, con inflamación peribronquial y neumonía intersticial. Los invasores secundarios como estafilococos o *H. influenzae* pueden originar una neumonía bacteriana. La obstrucción de los bronquiolos más pequeños por tapones de moco produce atelectasia y disminución de la oxigenación de la sangre. Es probable que esto contribuya a la frecuencia de convulsiones en los lactantes con tos ferina.

Manifestaciones clínicas

Después de un periodo de incubación de casi dos semanas, sobreviene la "etapa catarral", con accesos de tos leve y estornudos. Durante esta etapa, un gran número de microorganismos son pulverizados en las gotitas, y el paciente es muy contagioso, pero no está muy enfermo. Durante la etapa "paroxística", la tos adquiere su carácter explosivo y el característico "coqueluche" con la inhalación. Esto lleva al agotamiento rápido y puede acompañarse de vómito, cianosis y convulsiones. El "coqueluche o silvido" y las complicaciones principales se presentan sobre todo en los lactantes; la tos paroxística predomina en los niños mayores y en los adultos. La leucocitosis es alta (16 000 a 30 000/μl) con una linfocitosis absoluta. La convalecencia es lenta. *B. pertussis* es una causa frecuente de tos prolongada (cuatro a seis semanas) en los adultos. En ocasiones excepcionales, la tos ferina se acompaña de complicaciones neurológicas graves que pueden ser letales (convulsiones y encefalitis). Diversos tipos de adenovirus y *Chlamydia pneumoniae* pueden producir un cuadro clínico similar o causado por *B. pertussis.*

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Los hisopos nasofaríngeos (NP, *nasopharyngeal*) o aspirados de NP que utilizan solución salina son las muestras preferidas. Los hisopos deben tener punta de dacrón o rayón, no de alginato cálcico porque inhibe la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), ni algodón, porque éste lisa los microorganismos. En los adultos, la retención de gotitas expulsadas al toser directamente sobre un "portaobjetos para tos" frente a la boca del paciente durante un paroxismo es un método de obtención de muestra menos deseable.

B. Prueba de anticuerpo fluorescente directo

El reactivo de anticuerpo fluorescente (FA, *fluorescent antibody*) se puede utilizar para examinar las muestras de frotis nasofaríngeas. Sin embargo, puede haber resultados positivos falsos y negativos falsos. La sensibilidad es de casi 50%. La prueba de FA es muy útil para identificar *B. pertussis* después del cultivo en medios sólidos.

C. Cultivo

Los hisopos o aspirados de NP se cultivan en medios sólidos (véase información antes). Los antibióticos en los medios de cultivo tienden a inhibir otra microbiota respiratoria, pero permiten la proliferación de *B. pertussis.* Se identifican los microorganismos mediante la tinción inmunofluorescente o por la aglutinación en portaobjetos con antisuero específico.

D. Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) es el método más sensible para diagnosticar tos ferina. Deben incluirse sensibilizadores tanto para *B. pertussis* como para *B. parapertussis.* Cuando se dispone de esta prueba debe reemplazar a las pruebas de anticuerpos fluorescentes directos. Los puntos efectores existentes pueden mostrar reacción cruzada con otras especies de *Bordetella.*

E. Diagnóstico serológico

La producción de anticuerpos de IgA, IgG e IgM tiene lugar después de exposición a *B. pertusis* y tales anticuerpos pueden detectarse con inmunoanálisis enzimático. Las pruebas serológicas en pacientes son de poca ayuda diagnóstica, fundamentalmente debido a que no hay un aumento de anticuerpos de aglutinación o precipitación, sino hasta la tercera semana de la enfermedad. La serología permite valorar a pacientes que se presentan entre la segunda y cuarta semanas de la enfermedad. Un solo suero con títulos altos de anticuerpos es útil para el diagnóstico de la causa de una tos crónica, es decir, una de más de cuatro semanas de duración.

Inmunidad

Después de la solución de los espasmos de tos ferina o de la inmunización, la inmunidad no es de por vida. Pueden presentarse segundas infecciones pero son leves; las reinfecciones que se presentan años después en los adultos pueden ser graves. Es probable que la primera defensa contra la infección por *B. pertussis* sea el anticuerpo que impide la adhesión de las bacterias a

los cilios del epitelio respiratorio. Los anticuerpos contra PT son muy inmunógenos.

Tratamiento

B. pertussis es susceptible a varios fármacos antimicrobianos *in vitro*. La administración de eritromicina durante la etapa catarral de la enfermedad favorece la eliminación de los microorganismos y puede tener utilidad en la profilaxis. El tratamiento tras el inicio de la fase paroxística pocas veces modifica la evolución clínica. La inhalación de oxígeno y la sedación evitan la lesión anóxica del cerebro.

Prevención

Todo lactante debe recibir tres inmunizaciones contra la tos ferina durante el primer año de vida después de una serie de refuerzos hasta un total de cinco dosis. Se dispone de múltiples vacunas acelulares contra la tos ferina autorizadas en Estados Unidos y en otros países. Se recomienda la administración de estas vacunas. Las vacunas acelulares tienen por lo menos dos de los siguientes antígenos: toxina de la tos ferina inactivada, hemaglutinina filamentosa, proteínas fimbriales y pertactina.

Puesto que diferentes vacunas tienen diferentes antígenos, se debe utilizar el mismo producto durante toda una serie de inmunización. La vacuna contra la tos ferina se administra, por lo común, en combinación con los toxoides de difteria y tétanos (DTaP). Se recomiendan cinco dosis de vacuna contra la tos ferina antes de ingresar a la escuela. El esquema habitual de administración consiste en aplicar las dosis a los dos, cuatro, seis, y 15 a 18 meses de edad, y una dosis de refuerzo a los cuatro a seis años de edad. En 2005, el *Advisory Committee on Immunization* recomendó que todos los adolescentes y los adultos recibieran una sola dosis de refuerzo de tétanos-difteria y tos ferina acelular (TdaP) para sustituir la dosis de refuerzo de los toxoides del tétanos y la difteria solos (Td). Una estrategia para controlar la enfermedad en lactantes de menos de seis meses de edad es vacunar a las embarazadas con Tdap. En Estados Unidos se venden varias vacunas acelulares contra tos ferina para adolescentes y adultos.

La administración profiláctica de eritromicina durante cinco días también beneficia a los lactantes no inmunizados o a los adultos con exposición intensa.

Epidemiología y control

La tos ferina es endémica en casi todas las regiones densamente pobladas del mundo y también se presenta en forma intermitente en epidemias. La fuente de la infección suele ser un paciente en las primeras etapas catarrales de la enfermedad. La contagiosidad es alta y fluctúa de 30 a 90%. Casi todos los casos se presentan en niños menores de cinco años; la mayor parte de las muertes ocurre durante el primer año de vida.

En las últimas dos décadas, la disminución general de los casos de tos ferina en Estados Unidos comenzó a revertirse y a finales de la década de 1990 y primeros años de la de 2000 la incidencia de la enfermedad en los adolescentes aumentó de manera significativa. Esto llevó a recomendar en 2005 la Tdap en edades de 11 y 12 años (véase antes) y su aplicación a niños de 13 a 17 años no vacunados. La enfermedad disminuyó en adolescentes. Sin embargo, entre 2010 y 2012 se observaron epidemias de la enfermedad en niños pequeños (siete a 10 años) vacunados por completo (DTaP). Hay varias hipótesis sobre esta falta de respuesta duradera, que incluyen una disminución de la protección que comienza después de tres años de concluida la vacunación y posiblemente cambios en los antígenos y las características genotípicas de *B. pertusis*. Es necesario investigar más para comprender mejor dichas tendencias.

Sin importar las tendencias, el control del espasmo de tos ferina descansa principalmente en la inmunización activa de todos los infantes y adultos que están en contacto constante con los enfermos.

BORDETELLA PARAPERTUSSIS

Este microorganismo puede producir enfermedad similar a la tos ferina, pero en general es menos grave. La infección suele ser asintomática. *Bordetella parapertussis* se multiplica con mayor rapidez que *B. pertussis* típica y produce colonias más grandes. También se multiplica en agar sangre. *B. parapertussis* tiene una copia silente del gen de la toxina de tos ferina.

BORDETELLA BRONCHISEPTICA

B. bronchiseptica es un bacilo gramnegativo pequeño que reside en los aparatos respiratorios de caninos, en los que puede producir "tos canina" y neumonitis. Produce catarro nasal en los conejos y rinitis atrófica en los cerdos. Pocas veces es causa de infecciones respiratorias crónicas en el ser humano, principalmente en personas con enfermedades subyacentes. Se multiplica en medio de agar sangre. *B. bronchiseptica* tiene una copia silente del gen de la toxina de tos ferina. Este microorganismo posee una lactamasa β que lo torna resistente a las penicilinas y las cefalosporinas.

Verificación de conceptos

- Las especies de *Bordetella* son cocobacilos gramnegativos. El género incluye especies diversas que van desde *B. pertussis,* patógeno virulento de difícil cultivo causante de la tos ferina, hasta otras que se localizan más bien en animales.
- *B. pertussis* elabora diversos factores de virulencia que explican su patogenia (las fimbrias y la hemaglutinina filamentosa inducen adhesión; diversas toxinas, como la de la tos ferina, la citotoxina traqueal, la hemolisina y la toxina dermonecrótica, median los síntomas graves del aparato respiratorio, la linfocitosis característica y una evolución duradera).
- *B. pertussis* es un microorganismo de difícil cultivo y proliferación lenta; se necesitan, para obtener resultados óptimos, medios especializados como el agar de Regan-Lowe y la incubación en un entorno de 35 a 37 °C incluso durante siete días.
- Las pruebas diagnósticas de elección son los estudios de amplificación de ácido nucleico en combinación con cultivos.
- La tos ferina comienza con una fase catarral seguida de la etapa característica de tos paroxística que dura semanas y culmina en la fase de convalecencia.
- El tratamiento incluye medidas de sostén; se administra eritromicina para aminorar la infecciosidad, pero no modifica

la evolución de la enfermedad. El trastorno se puede evitar con la aplicación de una vacuna acelular.

- Las otras especies de *Bordetella* pueden originar infecciones del aparato respiratorio, pero no originan la clásica tos ferina.

LAS BRUCELAS

Las brucelas son parásitos obligados de animales y seres humanos y es característico que se localicen en el interior de la célula. Tienen un metabolismo relativamente inactivo. *Brucella melitensis* suele infectar a las cabras; *Brucella suis*, a los cerdos; *Brucella abortus,* al ganado bovino, y *Brucella canis*, a los perros. Se encuentran otras especies sólo en los animales. Aunque se denominan como especies, los estudios de relación de DNA han demostrado que sólo hay una especie en el género, *Brucella melitensis,* con múltiples biovariedades. La enfermedad en los seres humanos, brucelosis (fiebre recurrente, fiebre de malta), se caracteriza por una fase bacteriémica aguda que se acompaña de una etapa crónica que puede prolongarse durante muchos años y puede afectar muchos tejidos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

El aspecto en los cultivos jóvenes varía desde los cocos hasta los bacilos de 1.2 μm de longitud, predominando las formas cocobacilares cortas. Son gramnegativos pero a menudo se tiñen con irregularidad y son aerobios, no móviles y no formadores de esporas.

B. Cultivo

Las colonias pequeñas, convexas y lisas aparecen en medios enriquecidos en un lapso de dos a cinco días.

C. Características de crecimiento

Las brucelas están adaptadas a un hábitat intracelular y sus necesidades nutricionales son complejas. Algunas cepas se han cultivado en medios definidos que contienen aminoácidos, vitaminas, sales y glucosa. Las muestras recientes de fuentes animales o humanas suelen inocularse en agar de tripticasa-soya y medios para hemocultivo. *B. abortus* necesita CO_2 al 5 a 10% para multiplicarse, en tanto que otras especies proliferan en el aire.

Las brucelas utilizan carbohidratos pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes para la clasificación. Cuatro especies que infectan al ser humano son catalasa y oxidasa positivas. El sulfuro de hidrógeno es producido por muchas cepas y los nitratos se reducen a nitritos.

Las brucelas son moderadamente sensibles al calor y a la acidez. La pasteurización las destruye en la leche.

Estructura antigénica

La diferenciación entre las especies o biovariedades del género *Brucella* es posible por su sensibilidad característica a las tinciones y su producción de H_2S. Pocos laboratorios han mantenido los procedimientos de estas pruebas y las brucelas pocas veces se clasifican en las especies tradicionales. Puesto que las brucelas representa un riesgo en el laboratorio, se deben efectuar pruebas para clasificarlas sólo en los laboratorios de salud pública de referencia y con las precauciones de bioseguridad apropiadas.

Patogenia y anatomía patológica

Aunque cada especie de *Brucella* tiene un hospedador preferido, todas pueden infectar a una amplia variedad de animales, incluidos los seres humanos.

Las vías frecuentes de infección en el ser humano son el tubo digestivo (ingestión de leche infectada), las mucosas (gotitas) y la piel (contacto con tejidos infectados de animales). El queso elaborado con leche de cabra no pasteurizada es un vehículo muy común. Los microorganismos avanzan desde el lugar de entrada por los conductos linfáticos y los ganglios linfáticos regionales hasta el conducto torácico y la circulación sanguínea, y se distribuyen a los órganos parenquimatosos. Los nódulos granulomatosos que pueden desarrollarse en abscesos se forman en el tejido linfático, hígado, bazo, médula ósea y otras porciones del sistema reticuloendotelial. En tales lesiones, las brucelas tienen una localización intracelular principalmente. También suele presentarse osteomielitis, meningitis o colecistitis. La principal reacción histológica en la brucelosis consiste en la proliferación de leucocitos mononucleares, exudación de fibrina, necrosis con coagulación y fibrosis. Los granulomas constan de células epitelioides y gigantes con necrosis central y fibrosis periférica.

Las brucelas que infectan al ser humano tienen diferencias notables en la patogenicidad. *B. abortus* por lo general produce una infección leve sin complicaciones purulentas; se encuentran granulomas no caseificantes en el sistema reticuloendotelial. *B. canis* también produce enfermedad leve. La infección por *B. suis* tiende a ser crónica con lesiones purulentas; puede haber granulomas caseificantes. La infección por *B. melitensis* es más aguda y grave.

Las personas con brucelosis activa reaccionan de un modo más evidente (fiebre, mialgias) que las personas sanas a la endotoxina de *Brucella* inyectada. Por consiguiente, la sensibilidad a la endotoxina puede tener una participación en la patogenia.

Las placentas y las membranas fetales de ganado bovino, cerdos, ovejas y cabras contienen eritritol, un factor de crecimiento para las brucelas. La proliferación de microorganismos en animales preñados desencadena placentitis y aborto en estas especies. En placentas humanas no hay eritritol, por ello el aborto no es parte de la infección por *Brucella*.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de una a cuatro semanas. El inicio es gradual y se caracteriza por malestar general, fiebre, debilidad, mialgias generalizadas y sudoración. La fiebre por lo general aumenta por la tarde; su descenso durante la noche se acompaña de sudoración abundante. Puede haber síntomas digestivos y nerviosos. Los ganglios linfáticos aumentan de tamaño y el bazo se vuelve palpable. La hepatitis puede acompañarse de ictericia. El dolor intenso y las alteraciones del movimiento, sobre todo en los cuerpos vertebrales, indican osteomielitis. Estos síntomas de infección generalizada por *Brucella* suelen ceder en semanas o meses, aunque pueden continuar las lesiones circunscritas y los síntomas.

Después de la infección inicial, puede presentarse una etapa crónica, que se caracteriza por debilidad, mialgias y dolores, febrícula, nerviosismo y otras manifestaciones inespecíficas que son compatibles con síntomas psiconeuróticos. Las brucelas no se pueden aislar del paciente en esta etapa, pero el título de aglutinina puede ser alto. Es difícil establecer el diagnóstico de "brucelosis crónica" con certeza a menos que haya lesiones locales presentes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se debe obtener sangre para cultivo, material de biopsia para cultivo (ganglios linfáticos, hueso, etc.) y suero para pruebas serológicas.

B. Cultivo

El agar *Brucella* fue concebido de manera específica para el cultivo de bacterias del género *Brucella*. El medio es muy enriquecido y, en su forma reducida, se utiliza sobre todo en los cultivos para las bacterias anaerobias. En la forma oxigenada, el medio prolifera especies de *Brucella* muy bien. Sin embargo, la infección por bacterias del género *Brucella* a menudo no se sospecha al momento de cultivar las muestras y rara vez se utilizan cultivos aerobios para Brucella. Las bacterias del género *Brucella* se multiplican en medios de uso frecuente, como puede ser por medio de tripticasa y soya con o sin sangre de carnero al 5%, medio de infusión en cerebro y corazón, y agar chocolate. Las bacterias del género *Brucella* se multiplican con facilidad en medios para hemocultivo (véase adelante). El medio líquido que se utiliza para el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* también sustenta la proliferación de por lo menos algunas cepas. Todos los cultivos se deben incubar en CO_2 al 8 a 10% a una temperatura de 35 a 37 °C y se deben observar durante tres semanas antes de descartarse como negativos; los medios de cultivo líquidos deben volver a cultivarse aunque no se observe crecimiento durante este periodo.

La médula ósea y la sangre son las muestras en las cuales se aíslan con más frecuencia brucelas. El método de elección para la médula ósea consiste en utilizar los tubos Isolator pediátricos, que no necesitan ultracentrifugación, con inoculación de todo el contenido del tubo en medios sólidos. Los medios utilizados en los sistemas de hemocultivo semiautomáticos y automáticos producen la proliferación de las brucelas con facilidad, por lo general al cabo de una semana; sin embargo, se recomienda mantener los cultivos durante tres semanas. Los cultivos negativos para *Brucella* no excluyen la enfermedad porque las brucelas pueden cultivarse en los pacientes sólo durante la fase aguda de la enfermedad o durante la recidiva de la misma.

Después de unos días de incubación en agar, las brucelas forman colonias en la estría primaria, que tienen menos de 1 mm de diámetro. No son hemolíticas. La observación de pequeñísimos cocobacilos gramnegativos que son catalasa y oxidasa positivos indican la presencia de bacterias del género *Brucella*. Todo trabajo adicional en estos cultivos debe realizarse en una cabina con medidas de bioseguridad. Se debe inocular un cultivo inclinado de urea de Christensen y observarse con frecuencia. Una prueba de ureasa positiva es característica de bacterias del género *Brucella*. *B. suis* y algunas cepas de *B. melitensis* pueden producir una prueba positiva menos de 5 min después de inocular el cultivo inclinado; otras cepas tardan de unas cuantas horas a 24 h. Las bacterias que cumplen estos criterios deben enviarse de inmediato a un laboratorio de salud pública de referencia para la identificación preliminar. Las especies de *Brucella* en Estados Unidos están en la lista de agentes selectos. Se han ideado métodos moleculares para diferenciar con rapidez las diversas biovariedades.

C. Diagnóstico serológico

El diagnóstico de laboratorio de brucelosis se establece la mayor parte de las veces con pruebas de serología. Durante la primera semana de la enfermedad aguda aumentan las concentraciones de anticuerpos IgM, alcanzan un máximo a los tres meses y pueden persistir durante la enfermedad crónica. Aun con la antibioticoterapia apropiada, las concentraciones altas de IgM pueden persistir hasta por dos años en un pequeño porcentaje de pacientes. Las concentraciones de anticuerpo IgG se incrementan casi tres semanas después del inicio de la enfermedad aguda, alcanzan un máximo a las seis a ocho semanas y se mantienen altas durante la enfermedad crónica. Las concentraciones de IgA son paralelas a las concentraciones de IgG. Las pruebas serológicas habituales no siempre detectan la infección por *B. canis* debido a que los antígenos administrados pueden ser *B. abortus* o *B. melitensis*. Para establecer el diagnóstico definitivo de brucelosis se recomienda combinar pruebas serológicas (casi siempre pruebas de aglutinación con análisis no aglutinantes).

1. Prueba de aglutinación. Para que sean fiables las pruebas de aglutinación en suero deben realizarse con antígenos de *Brucella* estandarizados obtenidos por destrucción térmica, expuestos a fenol, simples. Los títulos de aglutinina IgG superiores a 1:80 indican infección activa. Las personas a las que se inyecta vacuna contra el cólera pueden presentar títulos de aglutinación contra las brucelas. Si la prueba de aglutinación en suero es negativa en pacientes con signos clínicos de infección por *Brucella,* se deben realizar pruebas para detectar la presencia de anticuerpos "bloqueantes". Para detectarlos se añaden anticuerpos contra la globulina humana a la mezcla de antígeno y suero. Las aglutininas de la brucelosis producen reacción cruzada con las aglutininas de la tularemia y se deben realizar las pruebas para las dos enfermedades en sueros positivos. Por lo general, el título para una enfermedad será mucho más alto que para la otra.

2. Anticuerpos bloqueantes. Éstos son anticuerpos IgA que interfieren en la aglutinación por IgG e IgM y hacen que una prueba serológica sea positiva en diluciones bajas en suero (prozona), aunque son positivas en las diluciones más altas. Tales anticuerpos aparecen durante la etapa subaguda de la infección, tienden a persistir por muchos años independientemente de la actividad de la misma y se detectan por el método de antiglobulina de Coombs.

3. Brucellacapt (Vircell, Granada, España). Se trata de un método de aglutinación por inmunocaptura rápido basado en la prueba de Coombs que detecta anticuerpos IgG e IgA no aglutinantes. Es de fácil realización y tiene sensibilidad y especificidad altas. No está disponible en Estados Unidos.

4. ELISA. Se pueden detectar anticuerpos IgG, IgA e IgM con una prueba de enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme–linked immunosorbent assay*) la cual hace uso de las proteínas citoplásmicas como antígenos. Estos análisis tienden a ser más sensibles y específicos que la prueba de aglutinación.

Inmunidad

Una respuesta de anticuerpos ocurre con la infección y es probable que se produzca cierta resistencia a los ataques subsiguientes. Las fracciones inmunógenas de paredes celulares de *Brucella* tienen un alto contenido de fosfolípido; la lisina predomina entre los ocho aminoácidos; no hay heptosa (lo que distingue, por lo tanto, entre las fracciones y la endotoxina).

Tratamiento

Las brucelas pueden ser susceptibles a la acción de tetraciclinas, rifampicina, trimetoprim-sulfametoxazol, aminoglucósidos y algunas quinolonas. El alivio sintomático puede presentarse a los pocos días después de iniciar el tratamiento con estos fármacos. Sin embargo, por su ubicación intracelular, los microorganismos no se erradican con facilidad del hospedador totalmente. Para mejores resultados, se debe prolongar el tratamiento. Se recomienda el tratamiento combinado con una tetraciclina (como la doxiciclina) y estreptomicina o gentamicina durante dos a tres semanas o rifampicina durante seis a ocho semanas. En pacientes con endocarditis o indicios de enfermedad neurológica, se sugiere el tratamiento triple con doxiciclina, rifampicina y un aminoglucósido.

Epidemiología, prevención y control

Las brucelas son microorganismos patógenos en los animales y son transmitidos al ser humano por el contacto accidental con heces, orina, leche y tejidos de animales infectados. Las fuentes frecuentes de infección para el ser humano son leche no pasteurizada, productos lácteos y queso, y el contacto laboral (p. ej., granjeros, veterinarios y personas que trabajan en los rastros) con animales infectados.

Los quesos elaborados con leche de cabra no pasteurizada son un vehículo muy frecuente de transmisión de la brucelosis. En ocasiones es importante la vía aérea. Debido al contacto laboral, la infección por *Brucella* es mucho más frecuente en los varones. La mayor parte de las infecciones se mantiene asintomática (latente).

Las tasas de infección varían bastante con los diferentes animales y con cada país. Fuera de Estados Unidos, la infección tiene una mayor prevalencia. La erradicación de la brucelosis en el ganado bovino puede intentarse mediante prueba y sacrificio, inmunización activa de novillas con la cepa 19 viva no virulenta, o combinando pruebas, segregación e inmunización. Se examina el ganado vacuno por medio de pruebas de aglutinación.

La inmunización activa del ser humano contra la infección por *Brucella* se encuentra en fase experimental. El control consiste en limitar la diseminación y en la posible erradicación de la infección de animales, la pasteurización de la leche y los productos lácteos, así como la reducción de los riesgos laborales cuando es posible.

Verificación de conceptos

- Las especies de *Brucella* son patógenos intracelulares obligados que aparecen en animales; la enfermedad en seres humanos, llamada brucelosis, se conoce por una variedad de sinónimos, como fiebre de Malta y fiebre ondulante, entre otros más; se origina más bien por contacto con animales o sus productos, en particular leche o quesos no pasteurizados.
- El periodo de incubación varía de una a cuatro semanas; el cuadro infeccioso puede comenzar de manera repentina con fiebre, escalofríos, sudoración y malestar general, y evolucionar hasta afectar múltiples órganos y sistemas con esplenomegalia, linfadenopatía y osteomielitis; la infección crónica puede persistir por años.
- El diagnóstico puede ser difícil y en muchos casos depende del estudio serológico porque es muy difícil cultivar tal microorganismo incluso en medios selectivos y con incubación duradera.
- El tratamiento comprende antimicrobianos por tiempo prolongado que sean eficaces contra patógenos intracelulares, como rifampicina, trimetropim-sulfametoxazol, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y tetraciclinas.

FRANCISELLA TULARENSIS Y TULAREMIA

Las bacterias del género *Francisella* tienen una amplia distribución en reservorios animales y medios acuáticos. La taxonomía de este género ha experimentado múltiples cambios a través de los años. Hay siete especies en el género, de las cuales la de mayor importancia es *Francisella tularensis*. Hay tres subespecies reconocidas de *F. tularensis: tularensis* (tipo A), *holarctica* (tipo B) *y mediasiatica*. La subespecie *tularensis* (tipo A) es la más virulenta de este grupo y la más patógena en el ser humano. Se relaciona con conejos silvestres, garrapatas y moscas tábano. Las cepas de la subespecie *holarctica* producen infección más leve y se relacionan con liebres, garrapatas, mosquitos y moscas tábano. *F. tularensis* es transmitida al ser humano por artrópodos y moscas que pican, por el contacto directo con el tejido animal infectado, la inhalación de aerosoles o la ingestión de alimento o agua contaminados. El cuadro clínico inicial depende de la vía de infección; se han descrito seis síndromes importantes (véase Patogenia y Manifestaciones clínicas).

Otras dos especies de *Francisella, Francisella philomiragia* y *Francisella novicida*, se han asociado a enfermedad en seres humanos. *F. philomiragia* usualmente se ha encontrado en situaciones de cuasi-ahogamiento. No se abordarán aquí estos microorganismos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

F. tularensis es un cocobacilo gramnegativo pequeño. Pocas veces se detecta en frotis de tejido (figura 18-2).

B. Muestras

Se obtiene sangre de las pruebas serológicas. Se puede aislar el microorganismo en el cultivo de aspirados de ganglios linfáticos, médula ósea, sangre periférica, tejidos profundos y biopsias de úlceras.

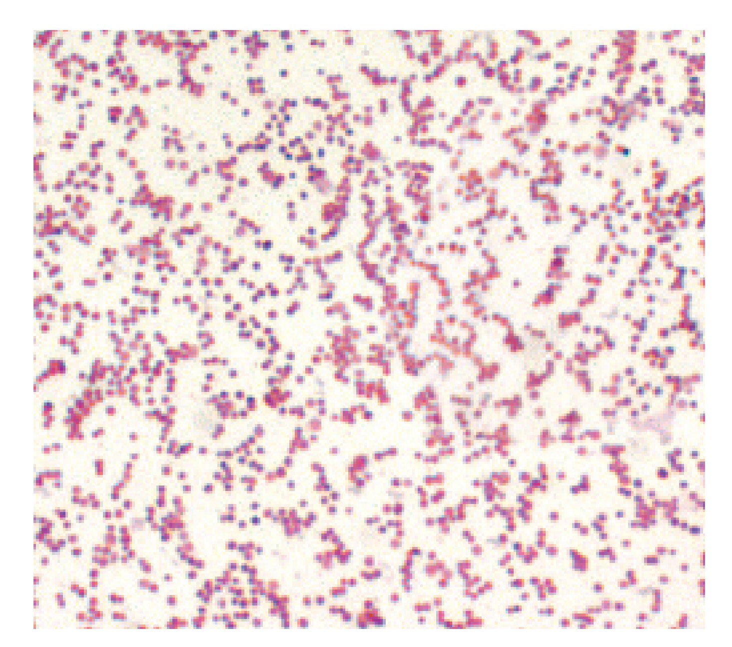


FIGURA 18-2 Tinción de Gram de *Francisella tularensis*. Estas bacterias son cocobacilos gramnegativos muy pequeños de unos 0.2 × 0.7 µm. Amplificación original × 1 000. (Cortesía de CDC Public Health Image Library.)

C. Cultivo

Para el cultivo son necesarios medios enriquecidos que contengan cisteína. Antes se prefería el agar sangre y glucosa-cisteína, pero *F. tularensis* prolifera en medios comercializados que contienen hemina como son el agar chocolate, el agar Thayer-Martin modificado y el agar amortiguado de carbón y extracto de levadura (BCYE, *buffered charcoal yeast extract*) que se utiliza para cultivar especies de *Legionella.* Los medios se deben incubar en CO_2 a una temperatura de 35 a 37 °C durante dos a cinco días. **Precaución:** a fin de evitar las infecciones adquiridas en el laboratorio, es indispensable practicar los procedimientos de nivel de bioseguridad 3 (BSL III, *biosafety level three*) cuando se trabaja con cultivos que se sospeche contengan bacterias vivas de *F. tularensis*. Las muestras clínicas requieren procedimientos BSL II.

D. Diagnóstico serológico

Todas las cepas son serológicamente idénticas y presentan un antígeno de polisacárido y uno o más antígenos de proteínas que experimentan reacción cruzada con brucelas. Sin embargo, hay dos biogrupos principales de cepas, llamadas Jellison tipo A y tipo B. La tipo A se presenta sólo en Norteamérica, es letal para los conejos, produce enfermedad grave en el ser humano, fermenta glicerol y contiene citrulina ureidasa. La tipo B carece de estas características bioquímicas, no es letal para los conejos, produce enfermedad más leve en el ser humano y suele aislarse de roedores o de agua en Europa, Asia y Norteamérica. Otros biogrupos tienen una escasa patogenicidad.

La respuesta de anticuerpo habitual consiste en aglutininas que se presentan siete a 10 días después del inicio de la enfermedad.

Patogenia y manifestaciones clínicas

F. tularensis es muy infeccioso; la penetración de la piel o las mucosas, o la inhalación de 50 microorganismos puede producir infección. Es más frecuente que los microorganismos entren a través de abrasiones en la piel. En dos a seis días, sobreviene una pápula inflamatoria ulcerosa. Los ganglios linfáticos regionales aumentan de tamaño y pueden volverse necróticos, a veces presentan secreción purulenta por semanas (tularemia ulceroganglionar). La inhalación de un aerosol infeccioso produce inflamación peribronquial y neumonitis circunscrita (tularemia neumónica). La tularemia oculoganglionar puede presentarse cuando un dedo infectado o una gotita tocan la conjuntiva. Las lesiones granulomatosas amarillentas en los párpados pueden acompañarse de adenopatía preauricular; las otras formas de la enfermedad son la tularemia ganglionar (linfadenopatía sin úlcera); la forma orofaríngea y la tifoídica (septicemia). Todos los individuos afectados tienen fiebre, malestar general, cefalea y dolor en la región atacada, además de linfadenopatía regional.

Por el carácter tan infeccioso de *F. tularensis,* este microorganismo es un microorganismo potencial de bioterrorismo y en la actualidad está clasificado en la lista de agentes selectos como un agente de categoría A. Los laboratorios que aíslan *F. tularensis* sospechosa deben notificar a las autoridades de salud pública y deben remitir la cepa a un laboratorio de referencia que pueda llevar a cabo la identificación definitiva.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

F. tularensis puede aislarse de las muestras clínicas antes mencionadas y mediante estudios serológicos. La prueba de aglutinación, sea en un formato tubular o en microaglutinación, es la forma de prueba estándar. Las muestras de suero pares obtenidas a intervalos de dos semanas permiten demostrar un incremento del valor de aglutinación. Un solo valor sérico de 1:160 es muy indicativo si los antecedentes y los signos físicos son compatibles con el diagnóstico. Como los anticuerpos reactivos en la prueba de aglutinación para la tularemia también reaccionan en la prueba para la brucelosis, se deben realizar las dos pruebas para los sueros positivos; el valor para la enfermedad que afecta al paciente suele ser cuatro veces mayor que el de otras enfermedades.

Tratamiento

El tratamiento con estreptomicina o gentamicina por un periodo de 10 días casi siempre produce mejoría rápida. La tetraciclina también es eficaz, pero son más frecuentes las recaídas. Otros fármacos a los que se puede recurrir son cloranfenicol y ciprofloxacino. *F. tularensis* es resistente a todos los antibióticos lactámicos β como consecuencia de la producción de lactamasa β.

Prevención y control

El ser humano adquiere la tularemia por el manejo de conejos o ratas almizcleras infectados o de mordeduras de una garrapata o una mosca del ciervo infectada. Con menor frecuencia, la fuente es el agua o el alimento contaminados, o el contacto con un perro o un gato que ha atrapado a un animal silvestre infectado. Es esencial evitar el contacto para la prevención. La infección en los animales silvestres no se puede controlar.

La vacuna hecha de *F. tularensis* viva atenuada (LVS) ya no se encuentra disponible para personas de alto riesgo; se encuentran en fase de investigación nuevas vacunas.

Verificación de conceptos

- *F. tularensis* es un cocobacilo gramnegativo que se tiñe débilmente y que ocasiona la tularemia, una infección zoonótica que puede ser mediada por vectores como garrapatas, por contacto directo con animales o en contadas ocasiones por la ingestión del microorganismo.
- Se conocen tres subespecies de *F. tularensis;* la subespecie *tularensis* (tipo A) es la más virulenta y patógena para el ser humano.
- Se conocen algunas manifestaciones clínicas de la tularemia según el tipo de exposición; las formas ganglionares están localizadas y conllevan menor mortalidad que las formas septicémicas o por inhalación de la enfermedad
- El diagnóstico de tularemia se confirma al identificar el microorganismo en material clínico apropiado y por estudios serológicos
- Entre los fármacos útiles para tratar la enfermedad están estreptomicina, gentamicina, tetraciclinas y fluoroquinolonas. *F. tularensis,* por su virulencia, ha sido considerado un posible agente de bioterrorismo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 68 años de edad fue atendida en la clínica porque presentaba febrícula y había experimentado dolor y edema crecientes en la rodilla izquierda durante las últimas tres semanas. Cuatro años antes, se le había implantado una prótesis articular en esa rodilla. Al explorar la rodilla estaba edematosa y se podía detectar líquido. Se obtuvo un aspirado de líquido. En él se identificaron 15 000 células polimorfonucleares/ml. No se observaban microorganismos en la tinción de Gram. Se llevó a cabo un cultivo sistemático. En el cuarto día de la incubación, se observaron colonias incoloras < 1 mm de diámetro en los discos de agar sangre y chocolate. El microorganismo era un cocobacilo gramnegativo diminuto que producía catalasa y oxidasa. Se inoculó un hemocultivo inclinado para urea y fue positivo para la actividad de ureasa tras la incubación durante la noche. ¿Con cuál de los siguientes microorganismos probablemente se infectó la paciente?
   (A) *Haemophilus influenzae*
   (B) *Haemophilus ducreyi*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) Bacterias del género *Brucella*
   (E) *Staphylococcus aureus*
2. Después que el cultivo (pregunta 1) se volvió positivo, se obtuvieron otros antecedentes. Casi cuatro semanas antes del inicio de su dolor en la rodilla, la paciente había visitado a familiares en Israel y había viajado a otros países de la región mediterránea. Le tomó gusto en particular a un producto alimenticio que era el probable vehículo de su infección. El producto más probable era
   (A) Plátanos
   (B) Queso de leche de cabra no pasteurizada
   (C) Hamburguesa mal cocida
   (D) Jugo de naranja fresco
   (E) Té verde
3. Un guardabosques de 55 años de edad en Vermont descubrió una rata almizclera muerta a la orilla de un arroyo. Levantó al animal, pensando que podría haber sido capturado o matado ilegalmente; no fue así y el guardabosques lo enterró. Cuatro días después presentó una úlcera dolorosa de 1.5 cm en el dedo índice de la mano derecha, una úlcera de 1 cm en el lado derecho de la frente y dolor en la axila derecha. La exploración física también reveló linfadenopatía axilar derecha. Este paciente muy probablemente contrajo una infección por
   (A) Bacterias del género *Brucella*
   (B) *Rickettsia rickettsii*
   (C) *Salmonella typhi*
   (D) *Haemophilus ducreyi*
   (E) *Francisella tularensis*
4. Un niño de 18 meses de edad estaba jugando con otro niño que presentó meningitis por *Haemophilus influenzae.* Sus padres consultan a su pediatra quien dice que seguramente el niño estará bien porque se ha inmunizado con la vacuna conjugada de fosfato de ribosa de polirribitol (PRP) y proteína. ¿Por qué motivo es necesario inmunizar a los lactantes de dos meses a dos años de edad con las vacunas conjugadas de polisacárido y proteína?
   (A) La proteína conjugada es toxoide diftérico y el objetivo es que el lactante presente inmunidad simultánea a la difteria
   (B) Los lactantes de dos meses a dos años de edad no tienen respuesta inmunitaria a las vacunas de polisacárido que no están conjugadas con una proteína
   (C) La vacuna conjugada está concebida para niños mayores y adultos lo mismo que para lactantes
   (D) Los anticuerpos maternos (transplacentarios) contra *Haemophilus influenzae* desaparecen de la circulación del lactante hacia los dos meses de edad
   (E) Ninguno de los anteriores
5. Un niño de 11 años de edad, originario de Perú fue remitido al Instituto de Tumores Cerebrales. Tres meses antes había presentado cefalea y luego debilidad del lado derecho de evolución lenta. En la tomografía computarizada se detectó una tumoración en el hemisferio izquierdo. Se pensó que tenía un tumor cerebral. No se llevó a cabo una punción lumbar por la preocupación de que aumentara la presión intracraneal y hubiera herniación del cerebro a través de la tienda del cerebelo. En la intervención quirúrgica se descubrió una lesión expansiva en el hemisferio izquierdo. Se realizaron cortes congelados del tejido mientras el paciente estaba en la mesa de operaciones. El examen microscópico de los cortes demostró una reacción inflamatoria granulomatosa. No se detectó ningún tumor. Se remitió el tejido para cultivo de *Mycobacterium tuberculosis.* Se utilizó el medio en caldo de Middlebrook 7H9. Seis días después de establecerse el cultivo, el aparato automático detectó que el cultivo era positivo. La tinción acidorresistente y la tinción de Gram fueron negativas. Se llevaron a cabo subcultivos. Dos días después se observaron colonias muy pequeñas en la placa de agar sangre de cordero. El microorganismo era un cocobacilo gramnegativo diminuto que producía catalasa y oxidasa. Demostró actividad de ureasa después de 2 h de incubación en medio que contenía urea. Este niño tenía una infección por
   (A) Bacterias del género *Brucella*
   (B) *Mycobacterium tuberculosis*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) *Haemophilus influenzae*
   (E) *Moraxella catarrhalis*
6. Un niño de 3 años de edad presenta meningitis por *Haemophilus influenzae.* Se inicia el tratamiento con cefotaxima. ¿Por qué se utiliza esta cefalosporina de tercera generación en vez de ampicilina?
   (A) Alrededor de 80% de los microorganismos de la especie *Haemophilus influenzae* ha modificado las proteínas fijadoras de penicilina que confieren resistencia a la ampicilina.
   (B) El fármaco de elección, trimetoprim-sulfametoxazol, no se puede usar en vista de que el niño es alérgico a las sulfonamidas
   (C) Es más fácil administrar cefotaxima intravenosa que ampicilina intravenosa

(D) Existe la preocupación de que el niño rápidamente presente alergia a la penicilina (ampicilina)
(E) Casi 20% de los microorganismos de la especie *Haemophilus influenzae* tienen un plásmido que codifica la síntesis de lactamasa β.

7. Un varón de 55 años de edad con caries dental grave acude con fiebre, malestar y lumbalgia de un mes de evolución y ahora presenta disnea moderadamente grave. La exploración física revela a un hombre febril que tiene aspecto pálido y disneico. Otros signos físicos son petequias conjuntivales, un soplo sistólico de grado III/VI y esplenomegalia. Los hemocultivos revelan un bacilo gramnegativo polimorfo que no es hemolítico y que cuando se realizaron pruebas fueron negativas para factores X y V. El microorganismo patógeno causal más probable es
(A) *Haemophilus influenzae*
(B) *Haemophilus ducreyi*
(C) *Aggregatibacter aphrophilus*
(D) *Actinobacillus hominis*
(E) *Haemophilus parainfluezae*

8. Todas las aseveraciones siguientes respecto a las vacunas de tos ferina acelular son correctas, *excepto:*
(A) Todas las formulaciones de la vacuna contienen por lo menos dos antígenos
(B) La vacuna acelular ha reemplazado a la vacuna de células enteras en la serie de vacunas infantiles
(C) Todos los niños deben recibir cinco dosis de la vacuna antes de ingresar en la escuela
(D) La vacuna está autorizada sólo para niños pequeños y adolescentes
(E) La vacuna es menos riesgosa y tiene la misma inmunogenicidad que las vacunas de células enteras

9. ¿Cuál de las siguientes subespecies de *Francisella tularensis* es la más virulenta en el ser humano?
(A) *tularensis*
(B) *holarctica*
(C) *mediasiatica*
(D) *novicida*

10. Todas las siguientes aseveraciones respecto al microorganismo causal del chancroide son correctas, *excepto:*
(A) El microorganismo es un bacilo gramnegativo pequeño
(B) El microorganismo necesita factor X pero no factor V
(C) El microorganismo prolifera bien en agar chocolate normalizado
(D) En la tinción de Gram de las lesiones el microorganismo tiene una disposición en cordones
(E) El microorganismo es susceptible a la eritromicina

11. Un lactante de tres meses de edad es llevado al servicio de urgencias de pediatría, con síndrome de insuficiencia respiratoria profunda. En la exploración física se advirtió deshidratación y notable linfocitosis en sangre periférica. En las radiografías de tórax se detectaron infiltrados perihiliares. La abuela que cuidaba al pequeño durante las horas de trabajo de la madre tenía una tos seca molesta desde dos semanas antes. El microorganismo causal más probable es
(A) *Haemophilus influenza* tipo b
(B) *Bordetella pertussis*
(C) *Streptococcus agalactiae*
(D) *Chlamydia pneumoniae*
(E) *Bordetella bronchiseptica*

12. En la pregunta anterior, el factor que ocasionó la linfocitosis profunda fue:
(A) La hemaglutinina A
(B) La cápsula de polisacárido A
(C) Una toxina estructurada A/B
(D) Toxina termolábil
(E) Una neuraminidasa

13. Todos los microorganismos mencionados causan infecciones zoonóticas *excepto*:
(A) *Francisella tularehsis*
(B) *Brucella melitensis*
(C) *Bordetella pertussis*
(D) *Bacillus anthracis*
(E) *Leptospira interrogans*

14. ¿Cuál de los siguientes factores de virulencia no es un factor reconocido como propio de *Bordetella pertussis*?
(A) Toxina termolábil
(B) Hemaglutinina filamentosa
(C) Citotoxina traqueal
(D) Toxina de tos ferina (pertussis)
(E) Toxina dermonecrótica

15. ¿Cuál de los siguientes patógenos señalados en este capítulo está dentro de la lista de agentes selectos?
(A) *Haemophilus influenza*
(B) *Aggregatibacter aphrophilus*
(C) *Bordetella pertussis*
(D) *Francisella tularensis*
(E) Todos los anteriores

Respuestas

1. D	5. A	9. A	13. C
2. B	6. E	10. C	14. A
3. E	7. C	11. B	15. D
4. B	8. D	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Briere EC, Rubin L, Moro PL, *et al.*: Prevention and control of *Haemophilus influenzae* type b disease: Recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2014;63(RR-01):1-14.

Centers for Disease Control and Prevention: Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis (Tdap) vaccine from the Advisory Committee on Immunization Practices, 2010. *MMWR* 2011;60(RR-3):13-15.

Clark TA: Changing pertussis epidemiology: Everything old is new again. *J Infect Dis* 2014;209:978-981.

Ledeboer NA, Doern GV: *Haemophilus*. En Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press, 2015(in press).

Nigrovic LE, Wingerter SL: Tularemia. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:489.

Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E: Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352:2325-2336.

Petersen JM, Schriefer ME, Araj GF: *Francisella* and *Brucella*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Pfaller MA, Farrell DJ, Sader HS, Jones RN: AWARE Ceftaroline Surveillance Program (2008-2010): Trends in resistance patterns among *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the United States. *Clin Infect Dis* 2012;55 (Suppl 3):S187-S193.

Von Konig CHW, Riffelmann M, Coenye T: *Bordetella* and related genera. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

CAPÍTULO

19

Yersinia y *Pasteurella*

Los microorganismos que se describen en este capítulo son bacilos gramnegativos cortos y pleomórficos que pueden mostrar una tinción bipolar; son catalasa positivos y oxidasa negativos, microaerófilos o anaerobios facultativos. La mayor parte tiene como hospedadores naturales a animales, pero pueden producir enfermedades graves en el ser humano.

El género *Yersinia* comprende *Yersinia pestis,* el microorganismo que origina la peste; *Yersinia pseudotuberculosis* y *Yersinia enterocolitica*, causas importantes de padecimientos diarreicos en seres humanos, y algunos otros considerados no patógenos para el ser humano. Varias especies de *Pasteurella* son patógenas principalmente en animales, pero *Pasteurella multocida* también puede producir enfermedad en el ser humano.

YERSINIA PESTIS Y PESTE

La peste es una infección de roedores silvestres, que se transmite de un roedor a otro y, en ocasiones, de roedores a seres humanos a través de las picaduras de pulgas. A menudo se presenta infección grave, que en los siglos pasados producía pandemias de "muerte negra" con millones de fallecimientos. La capacidad de este microorganismo para transmitirse en aerosol y la gravedad y la gran mortalidad inherente a la peste neumónica hicieron de *Y. pestis* un arma biológica potencial.

Morfología e identificación

Y. pestis es un bacilo gramnegativo que capta de modo notable colorantes en sus polos, como el caso de las tinciones especiales de Wright, Giemsa, Wayson y azul de metileno (figura 19-1). Es inmóvil. Crece como un anaerobio facultativo en muchos medios bacteriológicos. El desarrollo es más rápido en medios que contienen sangre o líquidos en los tejidos y aún más veloz a una temperatura de 30 °C. En los cultivos realizados en agar sangre a una temperatura de 37 °C, las colonias pueden ser muy pequeñas a las 24 h. Un inóculo virulento, derivado de tejido infectado, produce colonias grises y viscosas, pero después de atenuar su virulencia en el laboratorio, las colonias se vuelven irregulares y rugosas. El microorganismo tiene escasa actividad bioquímica y ésta es un poco variable.

Estructura antigénica

Todas las yersinias poseen lipopolisacáridos que tienen actividad endotóxica cuando se liberan. *Y. pestis* y *Y. enterocolitica* también producen antígenos y toxinas que actúan como factores de virulencia; poseen sistemas de secreción tipo III que constan de un complejo que se esparce por toda la membrana y que permite a las bacterias inyectar las proteínas de forma directa en el citoplasma de las células hospedadoras. Las yersinias virulentas producen antígenos V y W que codifican los genes presentes en un plásmido de alrededor de 70 kb. Esto es esencial para la virulencia; los antígenos V y W generan las necesidades de calcio para multiplicarse a una temperatura de 37 °C. En comparación con las demás yersinias patógenas, *Y. pestis* ha obtenido plásmidos adicionales. El pPCP1 es un plásmido de 9.5 kb que contiene genes que elaboran proteasa activadora de plasminógeno, que tiene una actividad de coagulasa dependiente de temperatura (20 a 28 °C, la temperatura de la pulga) y actividad fibrinolítica (35 a 37 °C, la temperatura del hospedador). Este factor interviene en la diseminación del microorganismo desde el lugar de inyección de la picadura de la pulga. El plásmido pFra/pMT (80 a 101 kb) codifica la proteína capsular (fracción F1) que se produce principalmente a una temperatura de 37 °C y confiere propiedades antifagocíticas. Además, este plásmido contiene genes que codifican la fosfolipasa D, necesaria para la supervivencia del microorganismo en el intestino medio de la pulga.

Y. pestis y *Y. enterocolitica* tienen un islote de patogenicidad (PAI, *pathogenicity island*) que codifica un ionóforo de hierro antioxidante (capítulo 9): yersiniabactina.

Patogenia y anatomía patológica

Cuando una pulga se alimenta de un roedor infectado por *Y. pestis*, los microorganismos ingeridos se multiplican en el intestino de la pulga y, ayudados por la coagulasa, obstruyen su proventrículo de manera que no puede pasar alimento. Después, la pulga "obstruida" y hambrienta pica con fiereza y la sangre aspirada contaminada con *Y. pestis* de la pulga es regurgitada hacia la herida de la picadura. Los polimorfonucleares y macrófagos pueden fagocitar a los microorganismos inoculados. Los leucocitos polimorfonucleares destruyen a los microorganismos de *Y. pestis,* pero éstos proliferan en los macrófagos; puesto que las bacterias se multiplican a una temperatura de 37 °C, puede elaborar proteína antifagocítica y por ello luego son capaces de resistir la fagocitosis. Los microorganismos patógenos llegan con rapidez a los linfáticos y sobreviene inflamación hemorrágica intensa en los ganglios linfáticos crecidos, que pueden experimentar necrosis y volverse fluctuantes. La invasión puede detenerse ahí, pero los microorganismos de *Y. pestis* a menudo llegan a la circulación sanguínea y se diseminan de manera amplia. Las lesiones hemorrágicas y necróticas se presentan en todos los órganos; la meningitis, la neumonía y la pleuropericarditis serosanguinolenta son manifestaciones importantes.

La peste neumónica primaria es consecuencia de la inhalación de gotitas infectantes (por lo común de un enfermo que

apter 19_Carroll_4R.indd 275 14/04/16

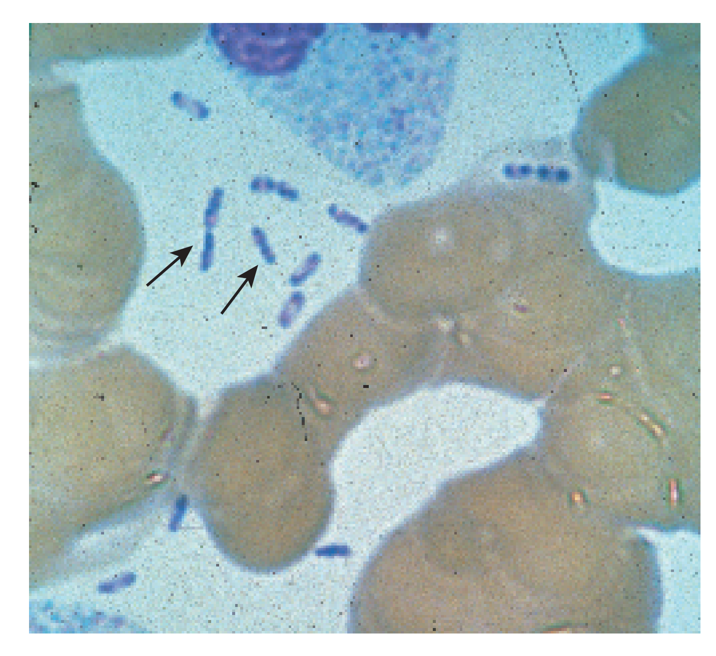


FIGURA 19-1 *Yersinia pestis* (flechas) en sangre. Tinción de Wright-Giemsa. Algunos de los microorganismos *Yersinia pestis* tienen tinción bipolar, lo cual les confiere un aspecto similar a un alfiler. Amplificación original ×1 000 (Cortesía de K Gage, Sección Peste, *Centers for Disease Control and Prevention*, Ft. Collins, CO.).

tose) y se caracteriza por consolidación hemorrágica, septicemia y muerte.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la peste dependen de los mecanismos de exposición. Después de un periodo de incubación de dos a siete días, hay fiebre alta y linfadenopatía dolorosa y, a menudo, se advierten las llamadas bubas, grandes nódulos dolorosos en el cuello, las ingles o las axilas. Esta es la forma bubónica de la enfermedad; quizá se presente vómito y diarrea con la forma septicémica temprana del trastorno. Más tarde, la coagulación intravascular diseminada desencadena hipotensión, alteraciones del estado mental e insuficiencias cardiaca y renal. En etapa terminal, puede haber signos de neumonía y meningitis; asimismo, *Y. pestis* se multiplica dentro de los vasos y puede detectarse en frotis sanguíneos. La peste pulmonar primaria se origina de la inhalación directa del mircroorganismo hacia el pulmón. A menudo la enfermedad evoluciona de manera fulminante con dolor torácico, tos, hemoptisis e insuficiencia respiratoria grave.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se debe sospechar la peste en pacientes con fiebre que han estado expuestos a roedores en zonas endémicas conocidas. Es esencial el reconocimiento rápido y la confirmación de la enfermedad mediante análisis de laboratorio a fin de establecer el tratamiento que salve la vida del paciente.

A. Muestras

Se obtiene sangre para cultivo y se aspiran los ganglios linfáticos aumentados de tamaño para frotis y cultivo. Se pueden analizar sueros de fases aguda y convaleciente para medir las concentraciones de anticuerpos. En la neumonía, se cultiva el esputo; ante una posible meningitis, se obtiene líquido cefalorraquídeo para frotis y cultivo.

B. Frotis

Y. pestis abarca bacilos gramnegativos pequeños que aparecen como células individuales o en pares o como cadenas cortas en material clínico. Las tinciones de Wright, Giemsa o Wayson pueden ser de mayor utilidad cuando se tiñe material de un probable bubón o de un hemocultivo positivo por el aspecto bipolar característico (forma de alfiler) de los microorganismos con estos métodos de tinción, lo cual no tiene lugar con la tinción de Gram directa. Los métodos de tinción directa más específicos (quizá disponibles a través de laboratorios de referencia) comprenden el empleo de tinciones de anticuerpos fluorescentes dirigidas al antígeno F1 capsular.

C. Cultivo

Todas las muestras se cultivan en agar sangre, chocolate y discos de agar de MacConkey y en caldo de infusión de cerebro y corazón. El crecimiento en los medios sólidos puede ser lento y tal vez necesite más de 48 h, pero los hemocultivos suelen ser positivos en 24 h. Se pueden identificar de modo tentativo los cultivos mediante reacciones bioquímicas. *Y. pestis* produce colonias no fermentadoras de lactosa en agar de MacConkey y crece mejor a una temperatura de 25 °C que a 37 °C. El microorganismo elabora catalasa, pero no indol, ni oxidasa ni ureasa y es inmóvil. Las últimas dos reacciones son útiles para distinguir *Y. pestis* de otras yersinias patógenas. Un microorganismo con las características antes mencionadas debe remitirse a un laboratorio de salud pública para realizar pruebas definitivas. Es mejor llevar a cabo la identificación concluyente de los cultivos mediante inmunofluorescencia o con lisis por medio de un bacteriófago específico de *Y. pestis* (se dispone de la confirmación a través de los laboratorios del departamento estatal de salud de Estados Unidos y mediante la consulta a los *Centers for Disease Control and Prevention* [CDC], Sección Peste, Fort Collins, CO, Estados Unidos).

Todos los cultivos son muy infecciosos y se deben manejar con precaución extrema en el interior de una cabina de seguridad biológica.

D. Diagnóstico serológico

En los pacientes no vacunados, una concentración de anticuerpo en suero de fase convaleciente de 1:16 o más es prueba presuntiva de infección por *Y. pestis*. Un incremento de los valores de disolución en dos muestras sucesivas confirma el diagnóstico serológico.

Tratamiento

Si no se trata con rapidez, la peste puede tener una mortalidad de casi 50%; la peste neumónica, de alrededor de 100%. El fármaco de elección es la estreptomicina, pero se ha demostrado que el aminoglucósido gentamicina es igualmente eficaz. La doxiciclina es un fármaco alternativo, así como la ciprofloxacina del grupo de las fluoroquinolonas. Ambos fármacos a veces se usan en combinación con la estreptomicina o la gentamicina. En pocas ocasiones, se ha detectado resistencia de *Y. pestis* a fármacos.

Epidemiología y control

La peste es una infección de roedores silvestres (ratones de campo, ciervos, topos, zorrillos y otros animales) que surge en muchas partes del mundo. Las principales zonas enzoóticas son India, sureste de Asia (sobre todo Vietnam), África, Norteamérica y Sudamérica. Los estados occidentales de Estados Unidos y México siempre contienen reservorios de la infección. Las epizootias con tasas de mortalidad altas se presentan de forma intermitente; en tales ocasiones, la infección puede diseminarse a roedores domésticos (p. ej., ratas) y otros animales (p. ej., gatos); el ser humano es susceptible de infectarse con picaduras de pulgas o por contacto. El vector más frecuente de la peste es la pulga de la rata (*Xenopsylla cheopis*), pero otras pulgas también pueden transmitir la infección.

Para el control de la peste es necesaria la vigilancia de animales infectados, vectores y contactos humanos (en Estados Unidos, esto lo realizan los organismos de condados y estatales con el apoyo de la Sección Peste de los CDC) y el sacrificio de los animales infectados con esta enfermedad. Si se diagnostica un caso humano, debe notificarse a las autoridades de salud con rapidez. Se debe aislar a todos los pacientes con sospecha de peste, sobre todo si no se ha descartado la afectación pulmonar. Es indispensable manejar con extrema precaución todas las muestras. Los contactos de pacientes con sospecha de peste neumónica deben recibir dosis de doxiciclina como quimioprofilaxia.

Ya no se dispone de vacunas de células enteras de microorganismos muertos. Hoy día se están perfeccionando múltiples vacunas por las preocupaciones en torno al bioterrorismo.

YERSINIA ENTEROCOLITICA

Este género abarca bacilos gramnegativos no fermentadores de lactosa que producen ureasa, pero no oxidasa. Crecen mejor a una temperatura de 25 °C y son móviles a 25 °C aunque no a 37 °C. Se detectan en el tubo digestivo de diversos animales en los cuales pueden causar enfermedad y transmitirla al ser humano, en quien pueden generar una amplia gama de síndromes clínicos.

Se conocen más de 70 serotipos de *Y. enterocolitica*; la mayor parte de las cepas de la enfermedad humana pertenece a los serotipos O:3, O:8 y O:9. Hay diferencias geográficas notables en la distribución de los serotipos de *Y. enterocolitica*. Esta última puede producir una enterotoxina termoestable, pero no está bien definida la función de tal toxina en la diarrea de origen infeccioso.

Este microorganismo se ha aislado de roedores y animales domésticos (p. ej., ovejas, ganado vacuno, cerdos, perros y gatos) y en aguas contaminadas por ellos. La transmisión al ser humano probablemente ocurre por la contaminación de alimento, las bebidas o los fómites. La transmisión entre personas de cualquiera de estos microorganismos tal vez es inusual.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Un inóculo de 10^8 a 10^9 yersinias debe entrar en el tubo digestivo para producir infección. Durante el periodo de incubación de cuatro a siete días, las yersinias se multiplican en la mucosa intestinal, sobre todo en el íleon. Esto desencadena inflamación y ulceración y aparecen leucocitos en las heces. El proceso puede extenderse a los ganglios linfáticos mesentéricos y algunas veces ocasiona bacteriemia.

Los síntomas iniciales consisten en fiebre, dolor abdominal y diarrea. La diarrea fluctúa desde líquida hasta sanguinolenta y puede deberse a una enterotoxina o a la invasión de la mucosa. En ocasiones, el dolor abdominal es intenso y localizado en el cuadrante inferior derecho, lo que sugiere apendicitis. Una o dos semanas después del comienzo, algunos enfermos que tienen el antígeno de histocompatibilidad HLA-B 27 manifiestan artralgias, artritis y eritema nudoso, lo cual hace pensar en una reacción inmunitaria a la infección. En contadas ocasiones, la infección por *Yersinia* causa neumonía, meningitis y septicemia y, en casi todos los casos, involuciona por sí sola.

Se han atribuido a *Y. enterocolitica* las infecciones postransfusionales originadas por eritrocitos contaminados; lo anterior es consecuencia de la capacidad del microorganismo, transmitido por un donante asintomático, de multiplicarse a temperaturas de refrigeración.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen heces, sangre o material obtenido en la exploración quirúrgica. Los frotis teñidos no aportan datos.

B. Cultivo

En las heces, quizá se encuentren pocas yersinias y su proliferación se logra con "enriquecimiento en frío", es decir, se coloca una pequeña cantidad de heces o el material obtenido por un aplicador dental, en solución salina amortiguada con pH de 7.6 y se conserva a 4 °C durante dos a cuatro semanas; muchos microorganismos fecales no sobreviven, pero *Y. enterocolitica* prolifera. Los cultivos secundarios elaborados a intervalos con agar de MacConkey pueden recuperar *Yersinia*. De manera alternativa, muchos laboratorios clínicos utilizan agar selectivo para *Yersinia,* como el compuesto de cefsulodina-triclosán-novobiocina (CIN, *cefsulodin-Irgasan-novobiocin*) incubado a temperatura ambiente durante varios días. Las colonias de *Y. enterocolitica* tienen el aspecto de un ojo de buey con un centro rojo, en el agar de CIN.

C. Diagnóstico serológico

En muestras de sueros pares obtenidos a un intervalo de dos semanas o más, se puede demostrar un incremento de los anticuerpos aglutinantes; sin embargo, las reacciones cruzadas entre yersinias y otros microorganismos (vibriones, salmonelas y brucelas) pueden confundir los resultados.

Tratamiento

La mayor parte de las infecciones por *Yersinia* que evolucionan con diarrea desaparece de forma espontánea y se desconocen los posibles beneficios del tratamiento antimicrobiano. *Y. enterocolitica* suele ser susceptible a aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, piperacilina, cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas; casi siempre es resistente a ampicilina y cefalosporinas de tercera generación. La septicemia o la meningitis por *Yersinia* confirmadas tienen una mortalidad alta, pero los decesos tienen lugar sobre todo

en pacientes inmunodeprimidos. La septicemia por *Yersinia* se puede tratar de manera adecuada con cefalosporinas de tercera generación (posiblemente en combinación con un aminoglucósido) o una fluoroquinolona (puede ser en combinación con otro antibiótico). Cuando las manifestaciones clínicas son muy congruentes con una apendicitis o una adenitis mesentérica, la exploración quirúrgica ha sido la regla, a menos que varios casos simultáneos indiquen que es probable la infección por *Yersinia*.

Prevención y control

El contacto con animales de granja y domésticos, sus heces o materiales contaminados por ellos puede contribuir a la mayor parte de las infecciones humanas. La carne y los productos lácteos de forma esporádica se han señalado como fuentes de infección y se han identificado brotes epidémicos originados en alimentos o bebidas contaminados. Las precauciones sanitarias tradicionales tal vez sean útiles. No se cuenta con medidas preventivas específicas.

Verificación de conceptos

- *Yersinia* es patógena zoonótica que causa enfermedad en seres humanos, la cual abarca desde infecciones leves del tubo digestivo hasta cuadros graves con gran mortalidad, como la peste.
- *Y. pestis* se transmite a las personas por la picadura de una pulga infectada, aunque otro mecanismo puede ser la inhalación. *Y. pestis* posee factores de virulencia transmitidos por medio de plásmidos, que permiten la supervivencia del microorganismo en el intestino de la pulga y que contribuyen a la aparición de manifestaciones clínicas graves en seres humanos.
- Cerca de la picadura aparece un bubón (ganglio linfático agrandado y supurado) que se acompaña de fiebre, forma más frecuente de la peste. A partir de la lesión circunscrita, la infección se puede diseminar y generar la modalidad septicémica del trastorno.
- El tratamiento comprende medidas de sostén y antibioticoterapia a base de estreptomicina, gentamicina, doxiciclina o una fluoroquinolona.
- *Y. enterocolitica* provocan gastroenteritis o linfadenitis mesentérica después de ingestión de agua o alimentos contaminados.
- Se identifica *Yersinia* en heces de enfermos infectados y para ello se utiliza un medio selectivo llamado agar de CIN, incubado a temperatura ambiente.
- El tratamiento de la gastroenteritis por *Yersinia* consiste en trimetoprim-sulfametoxazol, doxiciclina o una fluoroquinolona.

PASTEURELLA MULTOCIDA

Las pasteurelas son cocobacilos gramnegativos inmóviles con un aspecto bipolar en los frotis teñidos; son aerobias o anaerobias facultativas que se multiplican con facilidad en medios bacteriológicos ordinarios a una temperatura de 37 °C. Todos producen oxidasa y catalasa, pero difieren en otras reacciones bioquímicas.

P. multocida tiene distribución mundial y aparece en los aparatos respiratorio y digestivo de muchos animales domésticos y silvestres. Tal vez es el microorganismo más frecuente en heridas humanas infligidas por mordeduras de gatos y perros. Es una de las causas frecuentes de septicemia hemorrágica en diversos animales, como conejos, ratas, caballos, ovejas, aves de corral, gatos y cerdos; también ocasiona infecciones en muchos órganos de seres humanos y a veces es parte de la microbiota normal de las personas.

Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico inicial más frecuente es el antecedente de mordedura por un animal que a las pocas horas se acompaña de aparición aguda de eritema, edema y dolor. La linfadenopatía regional es variable y la fiebre a menudo es reducida. A veces, las infecciones por *Pasteurella* se presentan como bacteriemia o infección respiratoria crónica sin un vínculo evidente con animales.

P. multocida es sensible a casi todos los antibióticos. La penicilina G se considera el fármaco de elección para las infecciones por *P. multocida* como resultado de mordeduras de animales. Las tetraciclinas y las fluoroquinolonas son fármacos alternativos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un joven de 18 años de edad residente de Arizona acudió al servicio de urgencias (ED, *emergency department*) por presentar fiebre, dolor en la ingle izquierda y diarrea de dos días de evolución. En la exploración física, estaba afebril, tenía una frecuencia cardiaca de 126 lpm, frecuencia respiratoria de 20 rpm y presión arterial de 130/80 mmHg. Se observó edema e hipersensibilidad dolorosa en la ingle izquierda. Se diagnosticó un esguince de algún músculo inguinal, que se atribuyó a una caída ocurrida dos días antes. Se le trató con antiinflamatorios no esteroideos y se le dio el egreso. Al día siguiente, el paciente comunicó sentirse débil, tenía dificultad para respirar y se desmayó mientras tomaba una ducha. Se le transportó al servicio de urgencias de un hospital, donde se le declaró muerto poco después de su llegada. Los cultivos de las muestras de sangre que se obtuvieron en el ED fueron positivos para *Y. pestis*. Una investigación epidemiológica indicó que el paciente muy posiblemente se infectó como resultado de picaduras por pulgas infectadas por *Yersinia pestis* mientras caminaba a través de una colonia de marmotas (capítulo 48). ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre la patogenia de la peste es correcta?
   (A) *Yersinia pestis* produce una coagulasa cuando se incuba a una temperatura de 28 °C.
   (B) No hay riesgo de neumonía causada por la transmisión de *Yersinia pestis* entre personas.
   (C) Los microorganismos de *Yersinia pestis* se multiplican en polimorfonucleares.
   (D) Después de que la pulga infectada pica, rara vez la infección por *Y. pestis* se disemina (si es que lo hace) más allá del sitio de la picadura y los ganglios linfáticos regionales.
   (E) *Y. pestis* se transmite a animales (y seres humanos) mediante las heces que excreta la pulga cuando se alimenta.
2. El fármaco de elección para tratar al paciente de la pregunta 1 habría sido
   (A) Ampicilina
   (B) Cefotaxima

(C) Levofloxacina
(D) Eritromicina
(E) Estreptomicina

3. *Yersinia pestis* entró en Norteamérica a través de San Francisco en la década de 1890, transportada por las ratas en los buques que habían zarpado de Hong Kong, donde ocurrió una epidemia de peste. El reservorio actual de *Yersinia pestis* en Estados Unidos es
(A) Gatos silvestres urbanos
(B) Ratas urbanas
(C) Vacas domésticas
(D) Coyotes
(E) Roedores silvestres rurales

4. ¿Cuál de los siguientes en general no se considera un microorganismo potencial para bioterrorismo y guerra biológica?
(A) *Yersinia pestis*
(B) Toxina botulínica
(C) *Streptococcus pyogenes*
(D) *Brucella*
(E) *Bacillus anthracis*

5. Un niño de ocho años de edad fue mordido por un gato vagabundo. Dos días más tarde la herida estaba eritematosa y edematosa y drenaba un líquido purulento. Se cultivó *Pasteurella multocida* de la herida. El fármaco de elección para tratar esta infección es
(A) Amikacina
(B) Eritromicina
(C) Gentamicina
(D) Penicilina G
(E) Clindamicina

6. ¿Cuál de los siguientes fármacos deben recibir como quimioprofilaxia los contactos cercanos de pacientes con sospecha de peste neumónica?
(A) Gentamicina
(B) Cefazolina
(C) Rifampicina
(D) Penicilina
(E) Doxiciclina

7. En un paciente con peste bubónica, las siguientes muestras son aceptables para el diagnóstico, *excepto*
(A) Coprocultivo en agar entérico de Hektoen
(B) Hemocultivo con medios de laboratorio habituales
(C) Cultivos de un aspirado de ganglio linfático en agar sangre y agar de MacConkey
(D) Estudio serológico de suero de fase aguda y convaleciente
(E) Tinción inmunohistoquímica de tejido de ganglio linfático

8. Todas las siguientes aseveraciones respecto al plásmido de pFra/pMT de *Yersinia pestis* son correctas, *excepto*
(A) Codifica la proteína capsular (fracción F1) que confiere propiedades antifagocíticas.
(B) Contiene genes que producen la proteasa activadora de plasminógeno que posee una actividad de coagulasa dependiente de la temperatura.
(C) Contiene genes que codifican la síntesis de fosfolipasa D, la cual es necesaria para la supervivencia del microorganismo en el intestino medio de la pulga.
(D) Es único para *Yersinia pestis.*
(E) Codifica factores que son importantes para la supervivencia tanto en la pulga como en el ser humano.

9. Todas las siguientes aseveraciones respecto a la epidemiología de las infecciones causadas por *Yersinia enterocolitica* son correctas, *excepto*
(A) El serotipo O:1 genera la mayor parte de las infecciones humanas.
(B) Los seres humanos adquieren la infección por la ingestión de alimentos o bebidas contaminados por animales o productos animales.
(C) La propagación entre personas es muy frecuente.
(D) Es necesario un inóculo considerable para causar infección.
(E) La infección es más frecuente en personas con antígeno de histocompatibilidad HLA-B27

10. De los siguientes medios especializados, ¿cuál se necesita para la identificación óptima de *Yersinia enterocolitica* de las heces de enfermos de gastroenteritis?
(A) Agar con cefsulodina-triclosán-novobiocina
(B) Agar con xilosa-lisina descarboxilasa
(C) Agar entérico de Hektoen
(D) Medio de Regan-Lowe
(E) Agar de MacConkey

11. En un sujeto con septicemia, se identifica un microorganismo sospechoso de ser *Yersinia pestis.* El germen aislado capta en ambos polos el colorante y es catalasa-positivo pero también oxidasa y ureasa negativo e inmóvil. En este punto, ¿qué medidas se emprenden?
(A) Ninguna: el laboratorio ha confirmado el diagnóstico.
(B) Se inocula el microorganismo aislado con un medio comercial de identificación o un sistema automatizado para confirmarlo.
(C) Se llama a la policía ante la posibilidad de un incidente de bioterrorismo.
(D) Se envía el microorganismo aislado al laboratorio más cercano de salud pública, para confirmar su identidad.
(E) Se envía un microorganismo aislado al hospital en otro lado de la ciudad para establecer la secuencia microbiológica.

Respuestas

1. A	5. D	9. C
2. E	6. E	10. A
3. E	7. A	11. D
4. C	8. B	

BIBLIOGRAFÍA

Dennis DT, Mead PS: *Yersinia* species, including plague. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Ke Y, Chen Z, Yang R: Yersinia pestis: mechanisms of entry into and resistance to the host cell. *Front Cell Infect Microbiol* 2013;3:1.

Schriefer ME, Petersen JM: *Yersinia*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Wilson BA, Ho M: *Pasteurella multocida*: from zoonosis to cellular microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2013;26:631.

Zbinden R, von Graevenitz A: *Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella*, and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Zurlo JJ: *Pasteurella* species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

C A P Í T U L O

20

Neisserias

La familia *Neisseriaceae* comprende los géneros *Neisseria, Kingella, Eikenella, Simonsiella* y *Alysiella* (capítulo 16). Las neisserias son cocos gramnegativos que por lo común se presentan en pares (diplococos). *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) y *Neisseria meningitidis* (meningococos) son patógenos para el ser humano y suelen identificarse vinculados a los leucocitos polimorfonucleares o en el interior de los mismos. Algunas neisserias son residentes normales del sistema respiratorio humano; pocas veces en el peor de los casos producen enfermedad y residen fuera de células. En el cuadro 20-1 se enumeran los miembros del grupo.

Los gonococos y los meningococos están relacionados en forma estrecha; tienen una homología de DNA de 70% y se diferencian mediante algunos análisis de laboratorio y características específicas. Los meningococos a diferencia de los gonococos tienen cápsulas de polisacárido y pocas veces tienen plásmidos; la mayor parte de los gonococos sí contienen plásmidos. Es muy importante que las dos especies se distingan por las manifestaciones clínicas habituales de las enfermedades que producen: los meningococos por lo común se detectan en las vías respiratorias superiores y causan meningitis, en tanto que los gonococos ocasionan infecciones genitales. No obstante, se superponen los cuadros clínicos de las enfermedades producidas por ambos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las *Neisserias* características son diplococos gramnegativos inmóviles de casi 0.8 μm de diámetro (figuras 20-1 y 20-2). Los cocos individuales tienen forma de riñón; cuando los microorganismos están en pares, los lados planos o cóncavos están adyacentes.

B. Cultivo

Los gonococos y meningococos forman colonias convexas, brillantes, elevadas y mucoides de 1 a 5 mm de diámetro, en medios enriquecidos (p. ej., de Thayer-Martin modificado, de Martin-Lewis, GC-Lect y New York City) en 48 h. Las colonias son transparentes u opacas, no pigmentadas y no hemolíticas. *Neisseria flavescens, Neisseria cinerea, Neisseria subflava* y *Neisseria lactamica* pueden tener una pigmentación amarilla. *Neisseria sicca* produce colonias opacas, frágiles y arrugadas. *Moraxella catarrhalis* produce colonias no pigmentadas o de color gris a rosado opaco.

C. Características de crecimiento

Neisseriae proliferan mejor en condiciones aerobias, pero algunas lo hacen en un medio anaerobio; necesitan sustancias complejas para crecer. La mayor parte de las neisserias oxidan hidratos de carbono, produciendo ácido pero no gas y sus tipos de hidratos de carbono son un medio para distinguirlas (cuadro 20-1). Las neisserias producen oxidasa y son oxidasa positivas; la prueba de oxidasa es clave para su identificación. Cuando se colocan las bacterias en un papel filtro empapado con clorhidrato de tetrametilparafenilenediamina (oxidasa), las neisserias adoptan un color púrpura oscuro con rapidez.

Los meningococos y los gonococos crecen mejor en medios que contienen sustancias orgánicas complejas como sangre calentada, hemina y proteínas animales, y en una atmósfera que contiene CO_2 al 5% (p. ej., frasco con vela). Su crecimiento se inhibe por algunos componentes tóxicos presentes en el medio (p. ej., ácidos grasos o sales). Los microorganismos se destruyen con rapidez por el secamiento, la luz solar, el calor húmedo y muchos desinfectantes. Producen enzimas autolíticas que dan por resultado hinchazón rápida y lisis *in vitro* a una temperatura de 25 °C y con un pH alcalino.

NEISSERIA GONORRHOEAE

Los gonococos oxidan sólo glucosa y tienen antígenos diferentes a los de otras neisserias. Por lo general producen colonias más pequeñas que las demás neisserias. Los gonococos que necesitan arginina, hipoxantina y uracilo (auxotipos Arg^-, Hyx y Ura^-) tienden a crecer lentamente en cultivos primarios. Los gonococos aislados de muestras clínicas o mantenidos por subcultivo selectivo tienen pequeñas colonias típicas que contienen bacterias con pilosidades. En el subcultivo no selectivo también se forman colonias más grandes que contienen gonococos sin pilosidades. También se observan variantes opacas y transparentes tanto de las colonias pequeñas como de las grandes; las colonias opacas se relacionan con la presencia de una proteína expuesta a la superficie, Opa.

Estructura antigénica

N. gonorrhoeae es antigénicamente heterogénea y capaz de modificar sus estructuras superficiales *in vitro* y probablemente *in vivo* para evadir las defensas del hospedador. Las estructuras de la superficie comprenden las siguientes.

apter 20_Carroll_4R.indd 281 14/04/16

CUADRO 20-1 Reacciones bioquímicas de *Neisseriae* y *Moraxella catarrhalis*

	Crecimiento en MTM, ML o medio de NYC[a]	Ácido formado a partir de				DNAsa
		Glucosa	Maltosa	Lactosa	Sacarosa o fructosa	
Neisseria gonorrhoeae	+	+	–	–	–	–
Neisseria meningitidis	+	+	+	–	–	–
Neisseria lactamica	+	+	+	+	–	–
Neisseria sicca	–	+	+	–	+	–
Neisseria subflava	–	+	+	–	±	–
Neisseria mucosa	–	+	+	–	+	–
Neisseria flavescens	–	–	–	–	–	–
Neisseria cinerea	±	–	–	–	–	–
Neisseria polysaccharea	±	+	+	–	–	–
Neisseria elongata	–	–/w	–	–	–	–
Moraxella catarrhalis	–	–	–	–	–	+

[a]MTM, medio de Thayer-Martin modificado; ML, medio de Martin-Lewis; NYC, medio New York City.

A. Pilosidades (fimbrias)

Las pilosidades son los apéndices pilosos que se proyectan hasta varios micrómetros desde la superficie del gonococo. Facilitan la adhesión a las células hospedadoras y la resistencia a la fagocitosis. Están constituidas por proteínas de pilina apiñadas (peso molecular [MW, *molecular weight*] 17 a 21 kDa). Se conserva el amino terminal de la molécula de pilina, que contiene un gran porcentaje de aminoácidos hidrófobos. También se conserva la secuencia de aminoácido cerca de la porción media de la molécula. Esta porción de la molécula sirve para la adhesión a las células hospedadoras y es menos prominente en la respuesta inmunitaria. La secuencia de aminoácido cercana al dominio carboxilo terminal es muy variable; esta porción de la molécula es muy prominente en la respuesta inmunitaria. Las pilinas de casi todas las cepas de *N. gonorrhoeae* son antigénicamente diferentes y una sola cepa puede elaborar muchas formas de pilina antigénicamente diversas.

FIGURA 20-1 Tinción de Gram de un exudado uretral de un paciente con gonorrea. Se observan núcleos de muchos leucocitos polimorfonucleares (*flechas grandes*). Los diplococos gramnegativos intracelulares (*Neisseria gonorrhoeae*) en un leucocito polimorfonuclear están señalados con la *flecha pequeña*.

B. Proteína Por

La proteína Por se extiende a través de la membrana celular del gonococo. Tiene una disposición en trímeros para formar poros en la superficie a través de los cuales algunos nutrientes entran en la célula. Las proteínas Por pueden repercutir en la citólisis intracelular de los gonococos dentro de los neutrófilos mediante la prevención de la fusión del fagosoma y el lisosoma. Además, la resistencia variable de los gonococos a su destrucción por suero humano normal depende del hecho de que la proteína Por se una selectivamente a los componentes C3b y C4b del complemento. El peso molecular de Por varía de 32 a 36 kDa. Cada cepa de gonococo expresa sólo uno de dos tipos de proteína Por, pero la Por de diferentes cepas es

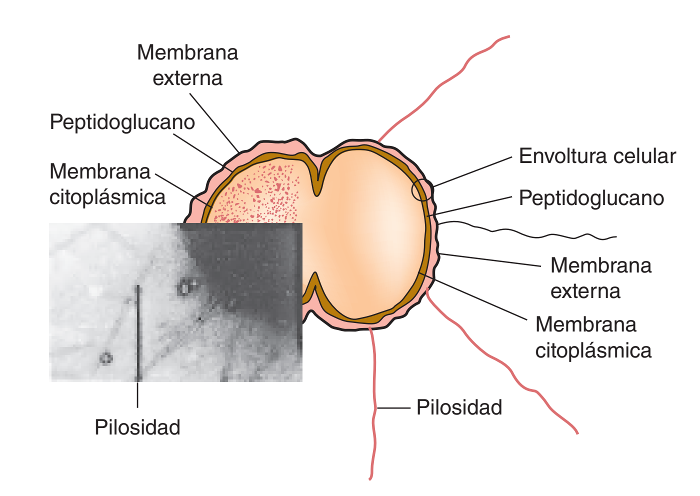


FIGURA 20-2 *Collage* y dibujo de *Neisseria gonorrhoeae* que muestra pilosidades y las tres capas de la envoltura celular.

apter 20_Carroll_4R.indd 282 14/04/16

antigénicamente diferente. La tipificación serológica de Por mediante reacciones de aglutinación con anticuerpos monoclonales fue un método útil para estudiar la epidemiología de *N. gonorrhoeae*. Sin embargo, este método se ha reemplazado por otros de tipo genotípico como la electroforesis en gel de campo pulsado, tipificación por Opa y secuenciación de DNA.

C. Proteínas Opa

Estas proteínas intervienen en la adhesión de gonococos dentro de las colonias y en la adhesión de los gonococos a los receptores de la célula hospedadora, como, por ejemplo, los compuestos relacionados con la heparina y CD66 o las moléculas de adhesión celular relacionadas con antígeno carcinoembrionario. Una porción de la molécula Opa se halla en la membrana externa del gonococo y la restante está expuesta en la superficie. El peso molecular de la proteína Opa fluctúa de 20 a 28 kDa. Una cepa de gonococo puede expresar ninguno, uno, dos o a veces tres tipos de Opa, aunque cada cepa tiene 11 o 12 genes para diferentes proteínas Opa. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) de genes de *opa* seguida por digestión de endonucleasa de restricción y el análisis de fragmentos subsecuentes mediante electroforesis en gel es un método útil de tipificación de cepas realizado por laboratorios de referencia.

D. Rmp (proteína III)

Esta proteína (MW 30 a 31 kDa) está antigénicamente conservada en todos los gonococos. Es una proteína modificable por reducción (Rmp, *reduction-modifiable protein*) y modifica su peso molecular evidente cuando se halla en un estado reducido. Se asocia a la proteína Por en la formación de los poros en la superficie celular.

E. Lipooligosacárido

En comparación con los bacilos gramnegativos entéricos (capítulos 2 y 15), el lipopolisacárido (LPS, *lipopolysaccharide*) gonocócico no tiene cadenas laterales largas de antígeno O y se denomina un lipooligosacárido (LOS, *lipooligosaccharide*). Su peso molecular es de 3 a 7 kDa. Los gonococos pueden expresar en forma simultánea más de una cadena de lipooligosacárido antigénicamente diferente. La toxicidad en las infecciones gonocócicas en gran parte se debe a los efectos endotóxicos de LOS. En concreto, en el modelo de explante de trompa de Falopio, los lipooligosacáridos producen pérdida de los cilios y muerte de la célula de la mucosa.

En una forma de mimetismo molecular, los gonococos elaboran moléculas de LOS que estructuralmente se parecen a los glucoesfingolípidos de la membrana celular humana. En la figura 20-3 se ilustra una estructura. El LOS gonocócico y el glicoesfingolípido humano de la misma clase estructural reaccionan con el mismo anticuerpo monoclonal, lo que indica el mimetismo molecular. La presencia de las mismas estructuras de superficie de las células humanas en la superficie gonocócica ayuda a los gonococos a evadir el reconocimiento inmunitario.

La galactosa terminal de los glucoesfingolípidos humanos suele conjugarse con ácido siálico. El ácido siálico es un ácido 5-*N*-acetilado quetulosónico de nueve carbonos también denominado ácido *N*-acetilneuramínico (NANA, *N-cetylneuraminic acid*). Los gonococos no elaboran ácido siálico pero sí una sialiltransferasa que funciona tomando el NANA del glúcido nucleótido humano ácido citidina 5′-monofosfo-*N*-acetilneuramínico (CMPNANA) e inserta el NANA en la galactosa terminal de un LOS de aceptor gonocócico. Esta sialilación afecta a la patogenia de la infección gonocócica. Esto hace que los gonococos sean resistentes a la destrucción por el sistema de anticuerpo y complemento humano e interfiere en la unión de los gonococos a los receptores en las células fagocíticas.

N. meningitidis y *H. influenzae* tienen muchas, aunque no todas, las estructuras de LOS que *N. gonorrhoeae*. Las características biológicas de los lipooligosacáridos para las tres especies y para algunas de las especies de *Neisseria* no patógenas son similares. Cuatro de los diversos serogrupos de *N. meningitidis* elaboran diferentes cápsulas de ácido siálico (véase adelante), lo que indica que también tienen vías biosintéticas diferentes a las de los gonococos. Estos cuatro serogrupos producen sialilación de sus LOS que utilizan ácido siálico de sus reservas endógenas.

F. Otras proteínas

Varias proteínas antigénicamente constantes de gonococos tienen funciones mal definidas en la patogenia. **Lip (H8)** es una proteína expuesta de la superficie que es termomodificable como Opa. La proteína fijadora de hierro (**Fbp**, ***ferric-binding protein***), similar en peso molecular a la proteína Por, se expresa cuando es limitada la reserva de hierro disponible, por ejemplo, en caso de una infección humana. Los gonococos elaboran una **proteasa de IgA1** que desdobla e inactiva IgA1, una inmunoglobulina importante de la mucosa de seres humanos. Los meningococos, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* elaboran proteasas de IgA1 similares.

Genética y heterogeneidad antigénica

Los gonococos han desarrollado mecanismos para la variación frecuente de una forma antigénica (pilina, Opa o LPS) a otra forma antigénica de la misma molécula. Esta variación ocurre en uno de cada $10^{2.5}$ a 10^3 gonococos, una tasa extremadamente rápida de cambio para las bacterias. Puesto que la pilina, la Opa y el LPS son antígenos expuestos en la superficie de los gonococos, son importantes en la respuesta inmunitaria a la infección. La variación rápida de las moléculas de una forma antigénica a otra ayuda a los gonococos a evadir el sistema inmunitario del hospedador.

El mecanismo de variación para la pilina, que ha sido estudiada con mayor detalle, es diferente del mecanismo para la proteína Opa.

Los gonococos tienen múltiples genes que codifican la síntesis de pilina, pero sólo un gen se inserta en el lugar de expresión. Los gonococos pueden retirar todo o parte de este gen de la pilina y reemplazarlo con todo o parte de otro gen de la pilina. Este mecanismo permite a los gonococos expresar con el tiempo muchas moléculas de pilina antigénicamente diferentes.

El mecanismo de variación de Opa implica, por lo menos en parte, la adición o la extracción del DNA de una o más de las repeticiones de codificación pentaméricas que preceden a la secuencia que codifica la síntesis del gen de Opa estructural. Se desconoce el mecanismo de variación del LPS.

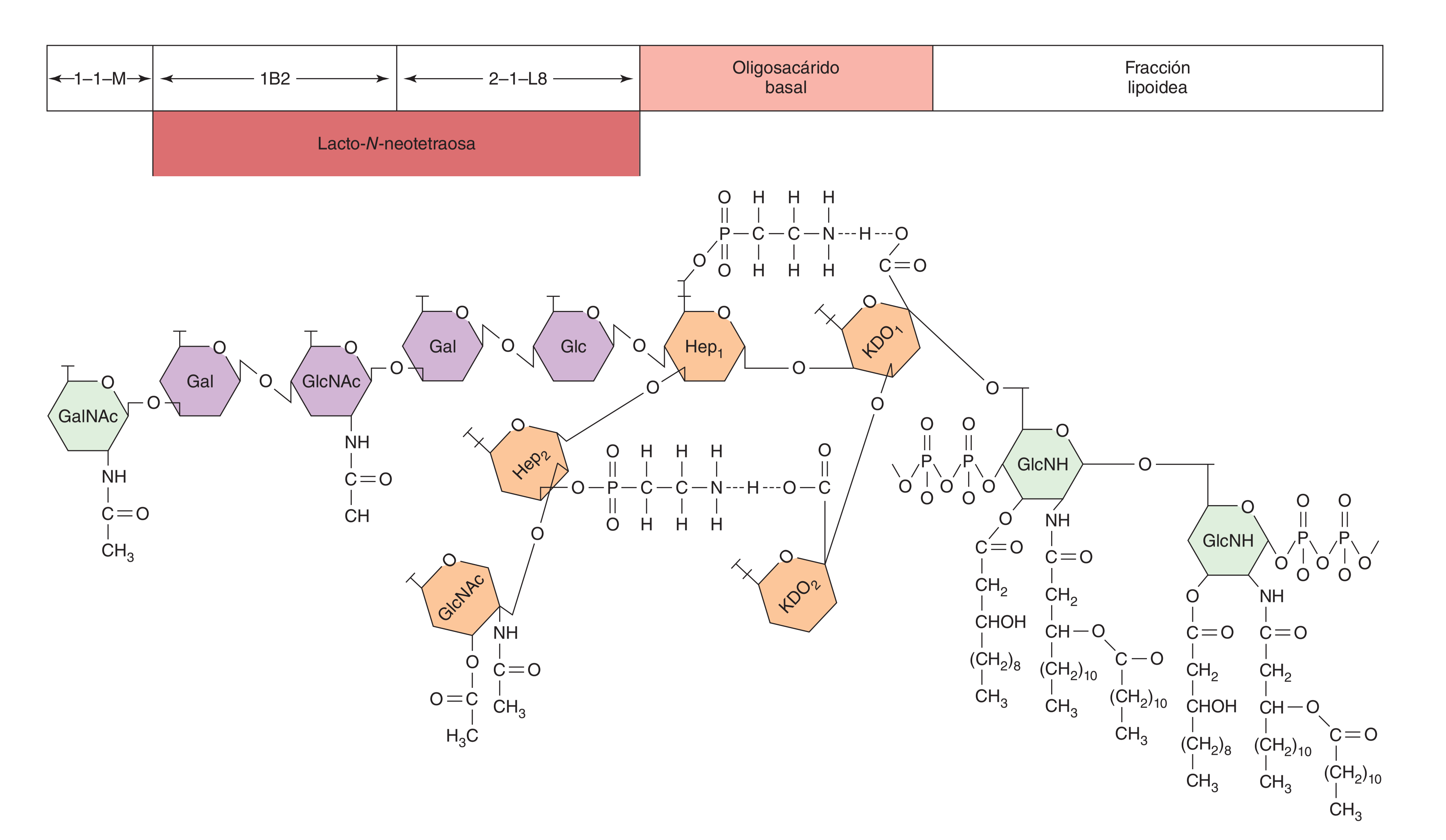


FIGURA 20-3 Estructura de lipooligosacárido gonocócico que tiene lacto-*N*-neotetraosa y una galactosamina terminal en una estructura similar a la serie de glucoesfingolípidos de gangliósido humano. El oligosacárido basal se ilustra en *rojo claro* y la lacto-*N*-neotetraosa en *rojo oscuro*. (Cortesía de JM Griffiss.)

Los gonococos contienen varios plásmidos; 95% de las cepas tienen un plásmido pequeño "críptico" (MW 2.6 mDa) de función desconocida. Otros dos plásmidos (MW 3.4 mDa y 4.7 mDa) contienen genes que codifican la síntesis de lactamasas β del tipo TEM-1 (penicilinasas), lo que produce resistencia a la penicilina. Estos plásmidos son transmisibles por conjugación entre los gonococos; son similares a un plásmido que contiene *Haemophilus* productor de penicilinasa y puede haberse adquirido de *Haemophilus* u otros microorganismos gramnegativos. Cinco a 20% de los gonococos contienen un plásmido (MW 24.5 × 10^6 kDa) con los genes que codifican la conjugación; la ocurrencia es mayor en zonas geográficas donde son más frecuentes los gonococos productores de penicilinasa. La gran resistencia a la tetraciclina (concentraciones inhibidoras mínimas [MIC, *minimal inhibitory concentration*] ≥ 16 mg/L) se ha desarrollado en los gonococos por la inserción de un gen estreptocócico *tetM* que codifica la resistencia a la tetraciclina en el plásmido conjugativo.

Patogenia, anatomía patológica y manifestaciones clínicas

Los gonococos muestran varios tipos morfológicos de colonias (véase antes), pero al parecer sólo las bacterias con pilosidades son virulentas. La expresión de la proteína Opa varía dependiendo del tipo de infección. Los gonococos que forman colonias opacas se aíslan en varones con uretritis sintomática y en cultivos cervicouterinos a la mitad del ciclo menstrual. Los gonococos que forman colonias transparentes a menudo se aíslan en varones con infección uretral asintomática, en mujeres que están menstruando y en casos de gonorrea invasiva, como salpingitis e infección diseminada. La variación antigénica de las proteínas de superficie durante la infección permite al microorganismo esquivar la respuesta inmunitaria del hospedador.

Los gonococos atacan las mucosas del aparato genitourinario, el ojo, el recto y la faringe, produciendo supuración aguda que puede desencadenar invasión de los tejidos; esto se acompaña de inflamación crónica y fibrosis. En los varones suele haber uretritis con pus amarillenta cremosa y disuria. El proceso puede extenderse hacia el epidídimo. A medida que cede la supuración en la infección no tratada se presenta fibrosis, lo cual a veces desencadena estenosis uretral. La infección uretral en los varones puede ser asintomática. En las mujeres, la infección primaria es en el conducto endocervical y se extiende hasta la uretra y la vagina, dando lugar a una secreción mucopurulenta. Luego puede avanzar a las trompas uterinas y causar salpingitis, fibrosis y obliteración de las trompas de Falopio. La esterilidad se presenta en 20% de las mujeres con salpingitis gonocócica. La cervicitis gonocócica crónica o la proctitis a menudo no producen síntomas.

La bacteriemia gonocócica causa lesiones de la piel (sobre todo pápulas hemorrágicas y pústulas) de las manos, antebrazos, pies y piernas, así como tenosinovitis y artritis purulenta, por lo general de las rodillas, tobillos y muñecas. Los gonococos se pueden cultivar en sangre o líquido articular de sólo 30% de los pacientes con artritis gonocócica. La endocarditis gonocócica es una infección poco frecuente pero grave. Los gonococos a veces causan meningitis e infecciones oculares en los adultos; éstos causan manifestaciones similares a las de las infecciones por meningococos. La deficiencia de complemento a menudo se detecta en pacientes con bacteriemia gonocócica. En caso de bacteriemia, sobre todo si es recidivante, se deben realizar pruebas de actividad hemolítica total del complemento.

La oftalmía neonatal gonocócica, una infección ocular del recién nacido, se adquiere durante el paso a través de un conducto de parto infectado. La conjuntivitis inicial avanza con rapidez y, si no se trata, produce ceguera. Para evitar la oftalmía neonatal gonocócica, es obligatoria en Estados Unidos la instilación de gotas de tetraciclina, eritromicina o nitrato de plata en el saco conjuntival del recién nacido.

Los gonococos que producen infección circunscrita suelen ser sensibles al suero (destruidos por anticuerpo y complemento).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

El pus y las secreciones se obtienen de la uretra, cuello uterino, recto, conjuntiva, faringe o del líquido sinovial para cultivo y frotis. En los pacientes con enfermedad sistémica es necesario el hemocultivo, pero es útil un sistema de cultivo especial, ya que los gonococos (y los meningococos) pueden ser susceptibles al sulfonato de polianetol presente en los medios de hemocultivo normales. Para los análisis moleculares diagnósticos pueden requerirse hisopos específicos. El personal clínico debe revisar aspectos relacionados con los dispositivos de obtención de muestras apropiados para ensayos utilizados en cada institución particular.

B. Frotis

Los frotis de exudado uretral o endocervical sujetos a tinción de Gram revelan muchos diplococos dentro de los piocitos, que permiten establecer un diagnóstico presuntivo. Los frotis teñidos del exudado uretral de los varones tienen una sensibilidad de casi 90% y especificidad de 99%. Los frotis teñidos de los exudados endocervicales tienen una sensibilidad de casi 50% y especificidad de cerca de 95% cuando los valora un microscopista experimentado. En los varones no son necesarias las pruebas diagnósticas adicionales de los exudados uretrales cuando la tinción es positiva, pero en las mujeres se deben realizar pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT, *nucleic acid amplification test*) o cultivos. Los frotis teñidos de exudados de la conjuntiva también pueden ser diagnósticos, pero los de muestras de la faringe o del recto por lo general no son útiles.

C. Cultivo

Inmediatamente después de la obtención, el pus o el moco se colocan en medio selectivo enriquecido (p. ej., medio de Thayer-Martin modificado [MTM, *modified Thayer-Martin medium*]) y se incuban en una atmósfera que contenga CO_2 a 5% (frasco con vela en absorbancia) a una temperatura de 37 °C. Para evitar la proliferación excesiva de contaminantes, el medio selectivo contiene antimicrobianos (p. ej., vancomicina, 3 μg/ml; colistina, 7.5 μg/ml; anfotericina B, 1 μg/ml, y trimetoprim, 3 μg/ml). Si no es posible la incubación inmediata, se debe colocar la muestra en un sistema de cultivo de transporte que contenga CO_2. Luego de 48 h del cultivo, se pueden identificar

con rapidez los microorganismos por su presencia en un frotis sujeto a tinción de Gram, por su producción de oxidasa y por la coaglutinación, la tinción inmunofluorescente u otras pruebas de laboratorio. Las bacterias subcultivadas se pueden determinar mediante la oxidación de carbohidratos específicos (cuadro 20-1). La espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption ionization- time- of- flight mass spectrometry*) es una técnica con la cual se puede lograr la identificación rápida (el mismo día) de las cepas cultivadas. Las especies de cepas gonocócicas de otras zonas anatómicas que no sean el aparato genital o en los niños, se identifican mediante dos pruebas confirmadoras diferentes debido a las repercusiones legales y sociales de un cultivo positivo. La mayor parte de los laboratorios ha sustituido los cultivos por NAAT. Así, puede ser difícil vigilar el aumento de resistencia a múltiples fármacos (véase después). Debe considerarse el cultivo en pacientes cuyo tratamiento estándar parece haber fallado.

D. Pruebas de amplificación de ácido nucleico

Se dispone de varios análisis de amplificación de ácido nucleico autorizados por la *Food and Drug Administration* (FDA) para la detección directa de *N. gonorrhoeae* en muestras genitourinarias; son las pruebas preferidas de estas fuentes. En general, tales análisis tienen una sensibilidad y una especificidad excelentes en grupos de pacientes sintomáticos con gran prevalencia. Las ventajas comprenden una mejor detección, resultados más rápidos y la posibilidad de utilizar la orina como muestra. Las desventajas incluyen la especificidad insatisfactoria de algunos análisis por la reactividad cruzada con especies del género *Neisseria* no gonocócicas. No se recomiendan estos análisis para el diagnóstico de las infecciones gonocócicas extragenitales o de infecciones en los niños. No se recomiendan las NAAT como pruebas de curación pues el ácido nucleico puede persistir en las muestras de pacientes hasta por tres semanas después del tratamiento eficaz. Los pacientes en quienes ha fallado el tratamiento se valoran mejor con cultivo, de manera que puede probarse la resistencia de los microorganismos (véase después en la sección de Tratamiento).

E. Diagnóstico serológico

El suero y el líquido genital contienen anticuerpos IgG e IgA contra las pilosidades gonocócicas, las proteínas de la membrana externa y el LPS. Parte de la IgM de los sueros humanos es bactericida para los gonococos *in vitro*.

En personas infectadas, es posible detectar pilosidades y proteínas de la membrana externa de los gonococos mediante pruebas de inmunoanálisis enzimático, radioinmunoanálisis y de ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción). Sin embargo, estas pruebas no son útiles como ayuda diagnóstica por diversos motivos, a saber: la heterogeneidad antigénica del gonococo; la demora en la producción de anticuerpos en la infección aguda y una gran concentración de fondo de anticuerpos en la población sexualmente activa.

Inmunidad

Las infecciones gonocócicas recidivantes son frecuentes. La inmunidad protectora contra la reinfección no parece presentarse como parte del proceso patológico, por la variedad antigénica de los gonococos. Aunque se pueden demostrar anticuerpos, incluso IgA e IgG en las superficies mucosas, son muy específicos de cepas o tienen escasa capacidad protectora.

Tratamiento

Desde el advenimiento y uso generalizado de la penicilina, la resistencia gonocócica a ésta ha aumentado de forma gradual, debido a la selección de mutantes cromosómicos y a la prevalencia elevada de *N. gonorrhoeae* productora de penicilinasas (PPNG, *penicillinase-producing N. gonorrhoeae*) (véase antes). Es frecuente la resistencia a la tetraciclina mediada por cromosomas (MIC ≥ 2 μg/ml). También se presenta un alto grado de resistencia a la tetraciclina (MIC ≥ 32 μg/ml). Se ha observado resistencia a la espectinomicina así como a las fluoroquinolonas. De 1993 hasta 2006 se recomendaba el tratamiento con fluoroquinolonas en una sola dosis en las infecciones gonocócicas. A partir de 2006, las tasas de resistencia a las quinolonas en las cepas de gonococos han superado el 5% en los varones que tienen relaciones sexuales con varones y también en aquellos heterosexuales. En Estados Unidos, ante los problemas de resistencia contra antibióticos en cepas de *N. gonorrhoeae*, los *Centers for Disease and Prevention* (CDC) recomiendan tratar las infecciones genitales o rectales simples con 250 mg de ceftriaxona por vía intramuscular en una sola dosis, o 400 mg de cefixima por vía oral en una sola dosis. En caso de coexistir una posible clamidiosis, se recomienda agregar al tratamiento 1 g de azitromicina oral en una sola dosis, o 100 mg de doxiciclina oral, dos veces al día durante siete días. Por desgracia, información novedosa del *Gonococcal Isolate Surveillance Project* (GISP) de los CDC ha registrado un aumento del porcentaje de cepas que muestran MIC elevados, tanto para cefixima como para ceftriaxona VO. Esta observación, combinada con informes de fracaso de tratamiento con cefixima en otros países, ha propiciado la revisión de las guías de tratamiento. Dado que la ceftriaxona es más potente que la cefixima, los CDC ya no recomiendan esta última como un tratamiento efectivo. La ceftriaxona inyectable, 250 mg IM una vez más azitromicina o doxiciclina, como se describió antes, es el tratamiento de elección para uretritis, cervicitis y proctitis simples. Se ha observado que la azitromicina es inocua y eficaz en embarazadas, pero en ellas está contraindicada la doxiciclina. En caso de otros tipos de infecciones por *N. gonorrhoeae* se recomiendan modificaciones del tratamiento anterior. Consúltese el sitio web de los CDC para conocer las guías actualizadas de tratamiento, de 2010 (http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6131a3.htm?s_cid=mm6131a3_w)

Como es posible que se hayan contraído otras enfermedades de transmisión sexual al mismo tiempo que la gonorrea, se deben poner en práctica los pasos para su diagnóstico y tratamiento (véase descripciones de clamidias, sífilis, etcétera).

Epidemiología, prevención y control

La gonorrea tiene una distribución mundial. En Estados Unidos su incidencia aumentó notablemente desde 1955 hasta finales de la década de 1970, cuando la incidencia fue entre 400 y 500 casos por cada 100 000 habitantes. Entre 1975 y 1997, hubo una reducción del 74% en la tasa de infecciones

gonocócicas notificadas. Así, las tasas se mantuvieron uniformes por 10 años y disminuyeron de 2006 a 2009, pero a partir de este último año comenzaron a incrementarse cada año de forma lenta de nuevo. La gonorrea se transmite de manera exclusiva mediante el contacto sexual, a menudo por mujeres y varones con infecciones asintomáticas. La infecciosidad del microorganismo es tal que la posibilidad de adquirir la infección por un solo contacto con una pareja sexual infectada es de 20 a 30% para los varones e incluso más elevada para las mujeres. La tasa de infección se puede reducir al evitar parejas sexuales múltiples, erradicando con rapidez los gonococos en individuos infectados por medio del diagnóstico y tratamiento oportunos, y el descubrimiento de casos y contactos a través de educación y detección en las poblaciones de alto riesgo. La profilaxia mecánica (condones) proporciona una protección parcial. La quimioprofilaxia tiene una utilidad limitada por el aumento de la resistencia del gonococo a los antibióticos.

La oftalmía neonatal gonocócica se previene mediante la aplicación local de ungüento oftálmico de eritromicina al 0.5% o ungüento de tetraciclina al 1% en la conjuntiva de los recién nacidos. Aunque la instilación de la solución de nitrato de plata también es eficaz y constituye el método tradicional para evitar la oftalmía neonatal, es difícil de almacenar y produce irritación de la conjuntiva; su empleo en gran parte ha sido reemplazado por el uso de ungüento de eritromicina o tetraciclina.

NEISSERIA MENINGITIDIS

Estructura antigénica

Se han identificado por lo menos 13 serogrupos de meningococos mediante la especificidad inmunológica de los polisacáridos capsulares. Los serogrupos más importantes relacionados con enfermedad en el ser humano son A, B, C, X, Y y W-135. Al contrario de los otros serogrupos capsulares en los que la cápsula está compuesta de mitades de ácido siálico, el polisacárido del grupo A es un polímero de fosfato N-acetil-manosamina-1. La incorporación de derivados de ácido siálico de ser humano como NANA en cápsulas meningocócicas permite que el microorganismo sea vigilado por el sistema inmunitario (en ocasiones este fenómeno se denomina "mimetismo molecular"). Se encuentran antígenos meningocócicos en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes con enfermedad activa. Los brotes epidémicos y los casos esporádicos en el hemisferio occidental en el último decenio se han debido principalmente a grupos B, C, W-135 y Y; los brotes epidémicos en el sur de Finlandia y en Sao Paulo, Brasil, fueron causados por grupos B y C; los brotes epidémicos en Nueva Zelanda se deben a una cepa B específica y los de África principalmente al grupo A. El grupo C y, sobre todo, el grupo A, se relacionan con enfermedad epidémica.

La membrana externa de *N. meningitidis* consta de proteínas y LPS que desempeñan funciones principales en la virulencia del microorganismo. Hay dos proteínas de porina (Por A y Por B) importantes en el control de la difusión de nutriente en el microorganismo; también interactúan con células hospedadoras. Tales porinas han sido blancos de interés en el desarrollo de vacunas. Las proteínas de opacidad (Opa) son comparables a las Opa de los gonococos y participan en la fijación. Los meningococos se agrupan en forma de pilosidades; tales estructuras comienzan la unión a células del epitelio nasofaríngeo y otras células hospedadoras, por ejemplo endoteliales y eritrocíticas. El disacárido del lípido A de las LPS meningocócicas causa muchos de los efectos tóxicos observados en la enfermedad meningocócica. Las concentraciones más altas de endotoxina medidas en septicemia se han observado en pacientes con meningococemia (50 a 100 veces más grande que con otras infecciones por microorganismos gramnegativos). Tales estructuras y proteínas son, en conjunto, la causa de las características clínicas devastadoras tan típicas de las infecciones meningocócicas.

Patogenia, anatomía patológica y manifestaciones clínicas

Los seres humanos son los únicos hospedadores naturales en quienes los meningococos son patógenos. La nasofaringe es la vía de entrada. Allí, los microorganismos se adhieren a las células epiteliales con la ayuda de las pilosidades; pueden formar parte de la microbiota transitoria sin producir síntomas. Desde la nasofaringe, los microorganismos llegan a la circulación sanguínea y producen bacteriemia; los síntomas son parecidos a los de una infección de las vías respiratorias superiores. La meningococemia fulminante es más grave y se manifiesta por fiebre elevada y exantema hemorrágico; puede haber coagulación intravascular diseminada y colapso circulatorio (síndrome de Waterhouse-Friderichsen).

La meningitis es la complicación más frecuente de la meningococemia. Por lo general comienza en forma brusca con cefalea intensa, vómito y rigidez del cuello, y evoluciona al estado de coma a las pocas horas.

Durante la meningococemia hay trombosis de diversos vasos sanguíneos pequeños en muchos órganos con infiltración perivascular y hemorragias petequiales. Puede haber miocarditis intersticial, artritis y lesiones de la piel. En la meningitis, las meninges presentan una inflamación aguda con trombosis de los vasos sanguíneos y exudación de leucocitos polimorfonucleares, de manera que la superficie del cerebro está cubierta por un exudado purulento espeso.

Se desconoce lo que transforma una infección asintomática de la nasofaringe en una meningococemia y una meningitis, pero ésta se puede evitar mediante anticuerpos séricos bactericidas que son específicos contra el serotipo infectante. La bacteriemia por *Neisseria* se favorece por la falta de anticuerpo bactericida (IgM e IgG), la inhibición de la acción bactericida sérica por un anticuerpo IgA bloqueante, o una deficiencia de componentes del complemento (C5, C6, C7 o C8). Los meningococos se fagocitan con facilidad en la presencia de una opsonina específica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras de sangre se utilizan para cultivo y las de líquido raquídeo para frotis, cultivo e incluso para pruebas moleculares de laboratorio. Los cultivos de exudado nasofaríngeo son adecuados para la valoración del portador. A través de punción de las petequias, se obtienen muestras para frotis y cultivo.

B. Frotis

Los frotis de sedimento de líquido cefalorraquídeo centrifugado o del aspirado petequial teñido con tinción de Gram a menudo muestran los gonococos característicos dentro de los leucocitos polimorfonucleares o extracelulares.

C. Cultivo

Los medios de cultivo sin sulfonato de polianetol sódico son útiles para cultivar muestras sanguíneas. Las muestras de líquido cefalorraquídeo se cultivan en agar chocolate, y se incuban a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO_2. Un MTM con antibióticos (vancomicina, colistina, anfotericina) favorece la proliferación de *Neisseriae*, inhibe a muchas otras bacterias y se utiliza para los cultivos nasofaríngeos. Las colonias presuntivas de los gonococos en medios sólidos, sobre todo en cultivo mixto, se pueden identificar mediante tinción de Gram y la prueba de la oxidasa. El líquido cefalorraquídeo y la sangre por lo general producen cultivos puros que se pueden identificar también mediante las reacciones oxidativas de hidratos de carbono (cuadro 20-1) y la aglutinación con suero de tipo específico o polivalente.

D. Diagnóstico serológico

Los anticuerpos contra los polisacáridos meningocócicos se pueden determinar mediante la aglutinación con látex o las pruebas de hemaglutinación o por su actividad bactericida. Se llevan a cabo estas pruebas sólo en laboratorios de referencia.

Inmunidad

La inmunidad contra la infección meningocócica se relaciona con la presencia de anticuerpos específicos, dependientes de complemento, bactericidas, en el suero. Estos anticuerpos se desarrollan después de infecciones asintomáticas con diferentes cepas o la inyección de antígenos y son específicos de grupo, específicos de tipo o ambos. Los antígenos inmunizantes para los grupos A, C, Y y W-135 son los polisacáridos capsulares. Para el grupo B, no se ha definido un antígeno específico adecuado que se pueda utilizar como una vacuna. Sin embargo, se han utilizado en muchas partes del mundo las vacunas del grupo B con mezclas de antígenos. En fecha reciente, la Unión Europea autorizó la vacuna 4CMenB. En la actualidad, existen tres tipos de vacunas contra los serogrupos A, C, Y y W-135 disponibles en Estados Unidos. Una vacuna tetravalente de polisacárido de la cual cada dosis consta de cuatro polisacáridos capsulares purificados de bacterias no es muy inmunógena en los niños menores de 18 meses, ni confiere inmunidad prolongada y no causa reducción persistente del estado de portador nasofaríngeo. Ésta se aprobó como una dosis única para individuos de dos años o más. En Estados Unidos, en el año 2005 se concedió la licencia para usar una vacuna conjugada tetravalente en individuos de nueve meses a 55 años de edad; esta vacuna contiene polisacárido capsular conjugado con toxoide diftérico. En niños de nueve a 23 meses de edad se requieren dos dosis. Existe otra vacuna de conjugado tetravalente en la cual los oligosacáridos A, C, Y, W135 se conjugaron con CRM197 de difteria; esta vacuna se aprobó para su uso en personas de dos a 55 años de edad. La vacuna de conjugado Hib-MenCy-TT es una vacuna serial de cuatro dosis aprobada para niños de seis a 18 meses de edad. En Europa está disponible una vacuna tetravalente meningocócica en la que el toxoide tetánico es la proteína de conjugado (MenACWY-tt). La ventaja de estas vacunas es que desencadenan una respuesta dependiente del linfocito T a la vacuna. Esto intensifica la respuesta primaria en los lactantes y reduce de manera notable el estado de portador asintomático.

En la actualidad se recomienda la vacunación sistemática de adolescentes (11 a 12 años de edad) antes de la secundaria mediante el empleo de la vacuna conjugada y un refuerzo a los 16 años con un conjugado aprobado. Asimismo, se recomienda la vacunación en personas de dos meses de edad o mayores que pertenecen a los siguientes grupos de riesgo: individuos con asplenia funcional o quirúrgica; personas con deficiencias de complemento. Los individuos de nueve meses de edad o mayores que viajan a regiones altamente endémicas o residen en ellas (p. ej., África subsahariana), "poblaciones cerradas" como estudiantes de primer año que habitan residencias universitarias y miembros de la milicia, poblaciones que sufren un ataque y trabajadores de laboratorios clínicos (microbiólogos), son otros grupos de riesgo que deben ser vacunados de manera habitual.

Tratamiento

La penicilina G es el fármaco de elección para tratar la infección meningocócica. En personas alérgicas a las penicilinas se utiliza cloranfenicol o una cefalosporina de tercera generación como cefotaxima o ceftriaxona.

Epidemiología, prevención y control

La meningitis meningocócica ocurre en ondas epidémicas (p. ej., campamentos militares, peregrinos religiosos y en África subsahariana, el llamado "cinturón de la meningitis") y un número menor de casos interepidémicos esporádicos. El serogrupo A es la causa de la mayor parte de ataques en África subsahariana, en tanto el serogrupo B es más a menudo la causa de infecciones esporádicas. Se sabe que 5 a 30% de la población normal puede tener meningococos en la nasofaringe (a menudo cepas no tipificables) durante los periodos interepidémicos. En las epidemias, la tasa de portador asciende de 70 a 80%. Una elevación del número de casos va precedida de un incremento en el número de portadores respiratorios. El tratamiento con penicilina oral no erradica el estado del portador. Se recomienda que después del contacto con un caso inicial se aplique quimioprofilaxia en contactos familiares u otros muy cercanos, bajo el siguiente esquema: rifampicina, 600 mg VO en adultos, 5 mg/kg en niños que aún no llegan al mes de edad o 10 mg/kg en niños de un mes o mayores, dos veces al día por dos días. Fármacos alternos son la ciprofloxacina en adultos, 500 mg como dosis única y ceftriaxona en niños en edad antes de 15 años, en dosis única de 125 mg IM. Los casos clínicos de meningitis constituyen sólo una fuente insignificante de infección y por lo tanto el aislamiento sólo tiene utilidad limitada. Es más importante la reducción de contactos personales en una población con una elevada tasa de portadores. Esto se logra al evitar el hacinamiento o la administración de vacunas como se mencionó antes.

OTROS GONOCOCOS

Neisseria lactamica muy pocas veces produce enfermedad pero es importante porque crece en medios selectivos (p. ej., medio de Thayer-Martin modificado) utilizados para los cultivos de gonococos y meningococos de muestras clínicas. *N. lactamica* se puede cultivar en la nasofaringe de 3 a 40% de las personas; muy a menudo se detecta en niños. A diferencia de los otros gonococos, fermenta lactosa.

Miembros de la microbiota habitual del aparato respiratorio, en particular la nasofaringe, son *N. sicca, N. subflava, N. cinerea, N. mucosa* y *N. flavescens,* y sólo en contadas ocasiones originan enfermedad. *N. cinerea* causa un cuadro similar a *N. gonorrhoeae* por su morfología y por una reacción positiva a la hidroxipropilaminopeptidasa.

Con anterioridad, *M. catarrhalis* se llamó *Branhamella catarrhalis* y antes de ello *Neisseria catarrhalis*. Es parte de la microbiota habitual de 40 a 50% de niños sanos en edad escolar. *M. catarrhalis* produce bronquitis, neumonía, sinusitis, otitis media y conjuntivitis. También es causa importante de infección en pacientes inmunodeficientes. La mayor parte de las cepas de *M. catarrhalis* de infecciones clínicamente importantes producen lactamasa β. *M. catarrhalis* se puede diferenciar de las neisserias por su falta de fermentación de hidratos de carbono y por su producción de DNAsa. Produce butirato esterasa, que constituye la base de las pruebas fluorométricas rápidas para la identificación.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- El género *Neisseria* consiste en dos patógenos principales, *N. gonorrhoeae y N. meningitidis;* los dos tienen factores elaborados que facilitan el desarrollo de enfermedad en personas por lo demás sanas. Las especies restantes forman parte de la microbiota habitual del ser humano en el aparato respiratorio, y pudieran participar en infecciones localizadas.
- Los miembros de este género son diplococos gramnegativos cuyas necesidades nutricionales son variables. Es muy difícil el cultivo de *N. gonorrhoeae;* se utilizan medios selectivos enriquecidos que contienen antibióticos, aminoácidos y otros elementos más para identificar el microorganismo en cultivos clínicos. Las demás especies se pueden cultivar con menor dificultad y proliferan en los medios corrientes de laboratorio.
- *N. gonorrhoeae* ocasiona la gonorrea, enfermedad de transmisión sexual; se caracteriza por cervicitis purulenta en mujeres y secreción purulenta en uretra en varones. Los recién nacidos que se infectan de su madre al momento del parto suelen presentar conjuntivitis purulenta.
- El diagnóstico se hace más bien por medio de NAAT; el tratamiento comprende ceftriaxona intramuscular más un fármaco como la azitromicina o la doxiciclina, para combatir las infecciones concomitantes por clamidias.
- *N. meningitidis* es la causa de meningitis endémica y epidémica. Su principal factor de virulencia es la gruesa cápsula de polisacáridos. Se conocen, en promedio, unos 13 tipos capsulares y los más comunes son A, B, C, X, Y y W-135.
- La *meningitis* meningocócica es una infección grave que ocasiona gran morbilidad y suele causar septicemia por su LOS potente. La penicilina es el fármaco de elección.
- El diagnóstico se hace al cultivar el líquido cefalorraquídeo en agar chocolate incubado a 37 °C en CO_2.
- La prevención comprende la aplicación de una de dos vacunas de conjugado (recomendado de manera sistemática en niños de 11 a 12 años de edad) o la vacuna a base del polisacárido.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los residentes de un grupo de pueblos pequeños en el África subsahariana rural padecieron una epidemia de meningitis. Diez por ciento de las personas fallecieron, la mayoría de ellas eran menores de 15 años de edad. El microorganismo que más probablemente causó esta epidemia fue:
   (A) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
   (B) *Escherichia coli* K1 (de tipo capsular 1)
   (C) *Haemophilus influenzae* serotipo b
   (D) *Neisseria meningitidis* serogrupo A
   (E) Virus del Nilo occidental
2. Un joven de nueve años de edad acudió a la clínica con una secreción uretral de 24 h de evolución. Se cultivó *Neisseria gonorrhoeae* de la muestra y se descubrió que tenía positividad para lactamasa β y que era resistente a altas concentraciones (≥ 32 μg/ml) de tetraciclina. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a estos factores de resistencia antimicrobiana es correcta?
   (A) La producción de lactamasa β y la gran resistencia a la tetraciclina son mediadas por genes presentes en los plásmidos
   (B) La producción de lactamasa β es mediada por un gen en el cromosoma bacteriano, en tanto que la gran resistencia a la tetraciclina es mediada por un gen presente en un plásmido
   (C) La producción de lactamasa β es mediada por un gen presente en un plásmido con una gran resistencia a la tetraciclina mediada por un gen presente en el cromosoma bacteriano
   (D) La producción de lactamasa β y la alta resistencia a la tetraciclina son mediadas por genes presentes en el cromosoma bacteriano
3. Un niño de seis años de edad presenta fiebre y cefalea. Es llevado al servicio de urgencias donde se observa que tiene rigidez de la nuca, lo que indica una irritación meníngea. Se lleva a cabo una punción lumbar y en el cultivo del líquido cefalorraquídeo se identifica *Neisseria meningitidis* del serogrupo B. ¿Cuál de las siguientes medidas debe valorarse para los miembros de su familia (que viven en el mismo domicilio)?
   (A) No se necesita profilaxia ni otras medidas
   (B) Es necesario administrarle la vacuna a base de pilina de *N. meningitidis*
   (C) Será necesario aplicarles la vacuna hecha de cápsula de polisacárido de *N. meningitidis* serogrupo B
   (D) Habrá que administrar rifampicina con fin profiláctico
   (E) Habrá que administrar sulfonamida con fin profiláctico
4. Una mujer de 18 años señala haber tenido relaciones sexuales sin protección con un nuevo compañero dos semanas antes de que presentara fiebre y dolor en el cuadrante inferior izquierdo del abdomen, cuyo comienzo coincidió con su periodo menstrual. En la exploración pélvica realizada en el servicio de urgencias, se advierte dolor en ambos lados a la palpación del útero. Se percibe una masa de 2 a 3 cm de diámetro en el lado izquierdo, indicativa de un absceso tuboovárico. Después, se cultiva *Neisseria*

gonorrhoeae del conducto endocervical. El diagnóstico es enfermedad pélvica inflamatoria gonocócica. Una secuela frecuente de esta infección es:

(A) Carcinoma cervicouterino
(B) Estenosis uretral
(C) Tumores fibroides uterinos
(D) Esterilidad
(E) Fístula vaginal-rectal

5. Un oficial de policía de 38 años de edad acude al servicio de urgencias con la molestia principal expresada de la manera siguiente: "Tengo infección gonocócica diseminada otra vez". Está en lo correcto. Los cultivos de su uretra y líquido articular revelan *Neisseria gonorrhoeae*. Con anterioridad había tenido cinco episodios de infección gonocócica diseminada. En el paciente se debe valorar:

(A) Deficiencia selectiva de IgA
(B) Defecto quimiotáctico de leucocitos polimorfonucleares
(C) Deficiencia de un componente del complemento de acción tardía C5, C6, C7 o C8
(D) Falta de actividad de adenosina desaminasa linfocítica
(E) Deficiencia de mieloperoxidasa

6. ¿Cuál de las siguientes personas debe recibir inmunización sistemática con la vacuna meningocócica conjugada?

(A) Un adolescente joven sano que ingresa en la secundaria
(B) Un niño sano que ingresa en el jardín de niños
(C) Un varón de 60 años de edad con diabetes dependiente de insulina
(D) Un técnico de 40 años de edad sano que trabaja en un laboratorio de investigación sobre el cáncer
(E) Una mujer de 65 años de edad con arteriopatía coronaria

7. Una mujer de 25 años de edad sexualmente activa presenta una secreción vaginal purulenta con disuria siete días después de tener relaciones sexuales sin protección con una nueva pareja. De las opciones que se exponen a continuación, ¿cuál es el método diagnóstico más sensible para determinar el posible microorganismo causal?

(A) Tinción de Gram
(B) Enzimoinmunoanálisis
(C) Cultivo bacteriano en medios selectivos
(D) Prueba de amplificación de ácido nucleico
(E) Diagnóstico serológico

8. ¿Cuál es el tratamiento recomendado en la actualidad para la uretritis gonocócica en varones que tienen relaciones sexuales con varones en Estados Unidos?

(A) Una sola dosis de una fluoroquinolona oral
(B) Siete días de doxiciclina oral
(C) Ceftriaxona administrada por vía intramuscular en una sola dosis
(D) Espectinomicina intramuscular en una sola dosis
(E) Siete días de amoxicilina oral

9. ¿A cuál de los siguientes componentes celulares producidos por *Neisseria gonorrhoeae* se debe la adhesión a las células hospedadoras?

(A) Lipooligosacárido
(B) Pilosidades (fimbrias)
(C) Proteasa de IgA1
(D) Proteína porina de la membrana externa
(E) Proteína fijadora de hierro

10. Un varón de 60 años con neumopatía crónica grave presenta fiebre, tos productiva con esputo purulento y agravamiento de la hipoxemia. Se obtiene una muestra de esputo y se remite al laboratorio. El examen microscópico de una tinción de Gram revela múltiples leucocitos polimorfonucleares y predominantemente diplococos gramnegativos intracelulares y extracelulares. El microorganismo se multiplica bien en SBA al 5% y agar con sangre cocida y tiene positividad para butirato esterasa. ¿Cuál es el microorganismo que más posiblemente está causando esta enfermedad en el varón?

(A) *Neisseria gonorrhoeae*
(B) *Neisseria lactamica*
(C) *Moraxella catarrhalis*
(D) *Haemophilus influenzae*
(E) *Neisseria meningitidis*

11. Una ventaja importante de las vacunas conjugadas meningocócicas en comparación con la vacuna a base de polisacárido, es:

(A) Estimulan la producción de IgA secretor de mucosa
(B) Tienen menos efectos secundarios
(C) Se induce una respuesta a la vacuna, que depende de linfocitos T
(D) Inclusión del serogrupo B

12. Una mujer de 25 años manifiesta por primera vez artritis séptica de la rodilla. En el líquido aspirado se advierte proliferación de un diplococo gramnegativo, en agar con sangre cocida después de 48 h de incubación. La cepa es oxidasa-positiva y oxida la glucosa, pero no la maltosa, la lactosa ni la sacarosa. El médico debe sospechar la infección por:

(A) *Neisseria meningitidis*
(B) *Neisseria lactamica*
(C) *Neisseria catarrhalis*
(D) *Neisseria gonorrhoeae*
(E) Ninguna de las anteriores

13. Los factores de virulencia presentados corresponden a *N. gonorrhoeae excepto*:

(A) Pilosidades
(B) Proteína Por
(C) Lipooligosáridos
(D) Proteína Opa
(E) Una gruesa capa de polisacárido

14. La prevalencia de infecciones gonocócicas aumentó entre 2009 y 2010

(A) Verdadero
(B) Falso

15. Un método útil para diferenciar *Moraxella catarrhalis* de neisserias saprofitas en muestras de vías respiratorias es:

(A) Butirato esterasa
(B) Tinción de Gram
(C) Proliferación en agar con sangre de oveja, al 5%
(D) PYR
(E) Oxidasa

Respuestas

1. D	5. C	9. B	13. E
2. A	6. A	10. C	14. A
3. D	7. D	11. C	15. A
4. D	8. C	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Apicella MA: *Neisseria meningitidis*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

Centers for Disease Control and Prevention: *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2012*. Retrieved from http://www.cdc.gov/std/stats12/default.htm.

del Rio C, Hall G, Holmes K, *et al.*: Update to CDCs *Sexually Transmitted Treatment Guidelines*, 2010. *MMWR Recommend Rep* 2012;61(RR12):590-594.

Elias J, Frosch M, Vogel U: *Neisseria*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

MacNeil JR, Rubin L, McNamara L, *et al.*: Use of MenACWY-CRM vaccine in children aged 2 through 23 months at increased risk for meningococcal disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, 2013. *MMWR* 2014;63:527-530.

Marrazzo JM: *Neisseria gonorrhoeae*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

Rouphael NG, Stephens DS: *Neisseria meningitidis*: Biology, microbiology and epidemiology. En: Christodoulides M (editor). *Neisseria Meningitidis: Advanced Methods and Protocols*. Humana Press, 2012, pp. 1-20.

CAPÍTULO

21

Infecciones causadas por bacterias anaerobias

Las infecciones de importancia médica causadas por bacterias anaerobias son frecuentes. Suelen ser polimicrobianas, es decir, se detectan bacterias anaerobias en infecciones mixtas con otros anaerobios, anaerobios facultativos y aerobios (véase el glosario de definiciones). Las bacterias anaerobias se detectan en todo el cuerpo humano (en la piel, las mucosas y en altas concentraciones en la boca y el tubo digestivo), como parte de la microflora normal (capítulo 10). Se presenta infección cuando los anaerobios y otras bacterias de la microflora normal contaminan zonas del organismo que normalmente son estériles.

Varias enfermedades importantes son causadas por especies anaerobias del género *Clostridium* del ambiente o de la microflora normal: botulismo, tétanos, gangrena gaseosa, intoxicación alimentaria y colitis seudomembranosa. Estas enfermedades se describen en los capítulos 9 y 11 y más adelante en este capítulo de forma breve.

GLOSARIO

Bacteria aerobia: bacterias que necesitan oxígeno como un aceptor terminal de electrón y no crecen en condiciones anaerobias (es decir, ante la falta de O_2). Algunas *Micrococcus* sp. y *Nocardia asteroides* son aerobios estrictos (es decir, deben tener oxígeno para poder sobrevivir).

Bacteria anaerobia: bacterias que no utilizan oxígeno para su crecimiento y metabolismo, sino que obtienen su energía de reacciones de fermentación. Una definición funcional de los anaerobios es que necesitan una reducción de la presión de oxígeno para proliferar y no se desarrollan en la superficie de un medio sólido en CO_2 al 10% en aire ambiental. Los *Bacteroides* sp. y *Clostridium* son ejemplos de anaerobios.

Anaerobios facultativos: bacterias que pueden proliferar en forma oxidativa, utilizando oxígeno como el aceptor terminal de electrones, o bien por vía anaerobia, utilizando reacciones de fermentación para obtener energía. Estas bacterias son microorganismos patógenos frecuentes. Las especies del género *Streptococcus* y las Enterobacteriaceae (p. ej., *Escherichia coli*) son algunos de los múltiples anaerobios facultativos que producen enfermedad. A menudo las bacterias que son anaerobios facultativos se denominan "aerobios".

FISIOLOGÍA Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO PARA LOS ANAEROBIOS

Las bacterias anaerobias no crecen en presencia de oxígeno y son destruidas por éste o por radicales de oxígeno tóxico (véase adelante). El pH y el potencial de oxidación y reducción (E_h) también son importantes para establecer las condiciones que favorecen el crecimiento de los anaerobios; éstos se multiplican a un E_h bajo o negativo.

Los aerobios y los anaerobios facultativos a menudo cuentan con los sistemas metabólicos enumerados más adelante, mientras que por lo común las bacterias anaerobias no lo hacen.

1. Sistemas de citocromo para el metabolismo de O_2.
2. Superóxido dismutasa (SOD, *superoxide dismutase*), que cataliza la siguiente reacción:

$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

3. Catalasa, que cataliza la siguiente reacción:

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2 \text{ (burbujas de gas)}$$

Las bacterias anaerobias no cuentan con los sistemas del citocromo para el metabolismo del oxígeno. Los anaerobios menos difíciles de aislar pueden tener bajas concentraciones de SOD y pueden tener o no catalasa. La mayor parte de las bacterias del grupo *Bacteroides fragilis* tiene cantidades pequeñas de catalasa y SOD. Al parecer hay múltiples mecanismos para la toxicidad por el oxígeno. Supuestamente, cuando los anaerobios tienen SOD o catalasa (o ambas), pueden contrarrestar los efectos negativos de los radicales de oxígeno y del peróxido de hidrógeno y, por lo tanto, tolerar oxígeno. Los **anaerobios estrictos (obligados)** por lo general carecen de SOD y catalasa y son susceptibles a los efectos letales del oxígeno; dichos anaerobios estrictos muy pocas veces se aíslan de infecciones humanas y casi todas las infecciones anaerobias de los seres humanos se deben a "anaerobios moderadamente estrictos".

La capacidad de los anaerobios para tolerar el oxígeno o crecer en su presencia varía de una especie a otra. Asimismo, hay una variación entre las cepas dentro de una determinada especie (p. ej., una cepa de *Prevotella melaninogenica* puede crecer a una concentración de O_2 del 0.1% pero no del 1%; otra puede crecer a una concentración del 2% pero no del 4%).

Asimismo, ante la falta de oxígeno, algunas bacterias anaerobias crecen a un E_h más positivo.

Los **anaerobios facultativos** crecen bien o mejor bajo condiciones anaerobias que en situaciones aerobias. Las bacterias que son anaerobios facultativos a menudo se denominan *aerobios*. Cuando un anaerobio facultativo como *E. coli* está presente en el sitio de una infección (p. ej., un absceso abdominal), puede consumir rápidamente todo el oxígeno disponible y cambiar al metabolismo anaerobio, lo que produce un medio anaerobio y un E_h bajo que permite que las bacterias anaerobias presentes crezcan y produzcan enfermedad.

BACTERIAS ANAEROBIAS DETECTADAS EN INFECCIONES DE SERES HUMANOS

Desde la década de 1990, la clasificación taxonómica de las bacterias anaerobias se ha modificado de manera muy importante por la aplicación de la secuenciación molecular y las técnicas de hibridación de DNA-DNA. La nomenclatura que se utiliza en este capítulo se refiere a los géneros de anaerobios que suelen detectarse en las infecciones humanas y a determinadas especies reconocidas como patógenas importantes en el ser humano. En el cuadro 21-1 se muestran los anaerobios que suelen aislarse en las infecciones humanas.

Anaerobios gramnegativos

A. Bacilos gramnegativos

1. *Bacteroides*. Las especies del genero *Bacteroides* son anaerobios muy importantes que ocasionan infección en los seres humanos. Constituyen un enorme grupo de bacilos gramnegativos resistentes a la bilis, no formadores de esporas y delgados que pueden tener el aspecto de cocobacilos. Muchas especies que antes se incluían en el género *Bacteroides* se han reclasificado en el género *Prevotella* o el género *Porphyromonas*.

CUADRO 21-1 Bacterias anaerobias de importancia clínica

Género	Sitio anatómico
Bacilos (bastones)	
Gramnegativos	
Grupo de *Bacteroides fragilis*	Colon, boca
Prevotella melaninogenica	Boca, colon, aparato genitourinario
Fusobacterium	Boca
Grampositivos	
Actinomyces	Boca
Propionibacterium	Piel
Clostridium	Colon
Cocos (esferas)	
Grampositivos	
Peptoniphilus	Colon, boca, piel, aparato genitourinario
Peptostreptococcus	Colon, boca, piel, aparato genitourinario
Peptococcus	

Las especies que se mantuvieron en el género *Bacteroides* son miembros del grupo de *B. fragilis* (casi 20 especies).

Las especies del genero *Bacteroides* son residentes habituales del intestino y de otros lugares. Las heces normales contienen 10^{11} microorganismos de la especie *B. fragilis* por gramo (en comparación con 10^8/g para los anaerobios facultativos). Otros miembros del grupo *B. fragilis* que se aíslan con frecuencia son *Bacteroides ovatus, Bacteroides distasonis, Bacteroides vulgatus* y *Bacteroides thetaiotaomicron.* Las especies del género *Bacteroides* muy a menudo intervienen en las infecciones intraabdominales, por lo general en circunstancias de alteraciones de la pared intestinal, como ocurre en caso de perforaciones relacionadas con intervenciones quirúrgicas o traumatismo, apendicitis aguda y diverticulitis. Estas infecciones a menudo son polimicrobianas. Tanto *B. fragilis* como *B. thetaiotaomicron* tienen que ver en las infecciones pélvicas graves como la enfermedad inflamatoria pélvica y abscesos ováricos. La especie recuperada con mayor frecuencia en algunas series de bacteriemias por anaerobios pertenece al grupo de *B. fragilis,* microorganismos que ocasionan una tasa muy alta de mortalidad. Como se describe más adelante en este capítulo, *B. fragilis* puede elaborar múltiples factores de virulencia que contribuyen a su patogenicidad y mortalidad en el hospedador.

2. *Prevotella*. Las especies del género *Prevotella* son bacilos gramnegativos y pueden tener el aspecto de bacilos delgados o cocobacilos. Las especies *Prevotella melaninogenica, Prevotella bivia* y *Prevotella disiens* se aíslan con mucha frecuencia. *P. melaninogénica* y especies similares se detectan en infecciones de las vías respiratorias altas. *P. bivia* y *P. disiens* se encuentran en el aparato genital femenino. Las especies del género *Prevotella* se aíslan en abscesos cerebrales y pulmonares, en empiemas y en la enfermedad inflamatoria pélvica, así como en los abscesos tuboováricos.

En estas infecciones, las prevotellas suelen acompañar a otros microorganismos anaerobios que son parte de la microflora habitual, sobre todo peptoestreptococos, bacilos grampositivos anaerobios y especies del género *Fusobacterium,* así como anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos que constituyen parte de la microflora normal.

3. *Porphyromonas*. Asimismo, las especies del género *Porphyromonas* son bacilos gramnegativos que forman parte de la microflora normal de la cavidad bucal y también se encuentran en otros lugares anatómicos. Las especies del genero *Porphyromonas* pueden cultivarse en infecciones dentales periapicales y gingivales y, más a menudo, en infecciones de mama, axila, perianales y genitales masculinos.

4. Fusobacterias. Éstas son alrededor de 13 especies de *Fusobacterium,* pero la mayor parte de las infecciones en seres humanos son causadas por *Fusobacterium necrophorum* y *Fusobacterium nucleatum.* Las dos especies tienen una morfología y hábitat diferentes, y también difieren en la variedad de infecciones que producen. *F. necrophorum* es un bacilo muy polimorfo, largo, con extremos redondos y tiende a presentarse en formas anormales. No es un componente de la cavidad bucal sana. *F. necrophorum* es muy virulento y produce infecciones graves de órganos de la cabeza y el cuello que pueden

evolucionar a una infección complicada llamada enfermedad de Lemierre. Esta última se caracteriza por tromboflebitis séptica aguda de la vena yugular que evoluciona a septicemia con abscesos metastásicos de pulmones, mediastino, espacio pleural e hígado. La enfermedad de Lemierre es más frecuente en niños mayores y en adultos jóvenes y a menudo se presenta relacionada con mononucleosis infecciosa. *F. necrophorum* también se observa en infecciones intraabdominales polimicrobianas. *F. nucleatum* es un bacilo delgado con extremos convergentes (forma de aguja) y es un componente importante de la microflora gingival, así como de los aparatos genital, digestivo y de las vías respiratorias altas. Como tal, a menudo se aísla en diversas infecciones clínicas como infecciones pleuropulmonares, infecciones obstétricas, corioamnionitis significativa y, a veces, abscesos cerebrales que complican la enfermedad periodontal. En contadas ocasiones produce bacteriemia en pacientes neutropénicos.

BACTERIAS QUE CAUSAN VAGINOSIS

La vaginosis bacteriana es un trastorno frecuente en mujeres en edad reproductiva. Se le vincula con la rotura prematura de membranas, así como con el trabajo de parto y el parto prematuros. Sus aspectos microbiológicos son complejos; *Gardnerella vaginalis* es un microorganismo que se ha vinculado de manera específica al cuadro patológico de esta enfermedad.

GARDNERELLA VAGINALIS

G. vaginalis es un microorganismo serológicamente peculiar aislado del aparato genitourinario sano de la mujer y también se le ha vinculado con vaginosis, denominada así porque no hay células inflamatorias. En frotis húmedos esta vaginitis "inespecífica" o **vaginosis bacteriana** incluye "células clave", que son células del epitelio vaginal cubiertas por muchos bacilos gramvariables, y no hay otras causas comunes de vaginitis como tricomonas o levaduras. La secreción vaginal suele tener un olor característico a "pescado" y contiene innumerables anaerobios además de *G. vaginalis*. El pH de las secreciones vaginales es mayor de 4.5 (pH normal < 4.5). La vaginosis atribuida a dicho microorganismo se puede suprimir con metronidazol, lo cual sugiere una relación con anaerobios. El metronidazol por vía oral es generalmente curativo.

Anaerobios grampositivos

A. Bacilos grampositivos

1. *Actinomyces.* El grupo del género *Actinomyces* comprende varias especies que causan actinomicosis, de las cuales *Actinomyces israelii* y *Actinomyces gerencseriae* son los que se aíslan con mayor frecuencia. Varias especies nuevas recién descritas que no se relacionan con la actinomicosis se han asociado a infecciones de ingle, región urogenital, mama y axilas, así como infecciones posoperatorias de mandíbula, ojos, cabeza y cuello. Algunas especies también se han implicado en casos de endocarditis, sobre todo en toxicómanos. Estas especies recién descritas son aerotolerantes y forman pequeñas colonias no descritas que probablemente a menudo se pasan por alto como contaminantes. En la tinción de Gram tienen una longitud muy variable; pueden ser filamentos cortos y en forma de bastón, o largos y delgados en forma de gota o microesfera. Pueden ser ramificados o no ramificados. Puesto que a menudo crecen con lentitud, puede ser necesaria la incubación prolongada del cultivo antes de confirmar con el laboratorio el diagnóstico clínico de la actinomicosis. Algunas cepas producen colonias en agar que son parecidas a los dientes molares. Algunas especies de *Actinomyces* toleran oxígeno (aerotolerantes) y proliferan en la presencia de aire; estas cepas pueden confundirse con especies de *Corynebacterium* (difteroides; capítulo 12). La actinomicosis es una infección purulenta y granulomatosa crónica que produce lesiones piógenas con fístulas interconectadas que contienen gránulos formados por microcolonias de las bacterias embebidas en elementos hísticos (figura 21-1). La infección es iniciada por un traumatismo que introduce estas microbacterias endógenas en la mucosa. Los microorganismos crecen en un nicho anaerobio, provocan una respuesta inflamatoria mixta y se diseminan con la formación de fístulas, que contienen los gránulos y que pueden drenar hacia la superficie. La infección produce edema y puede diseminarse hacia los órganos circunvecinos, incluidos los huesos.

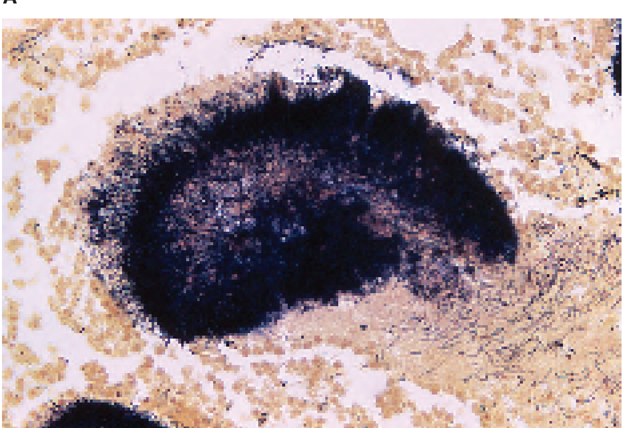
Con base en la zona de afectación, las tres formas frecuentes son actinomicosis cervicofacial, torácica y abdominal. La infección cervicofacial se manifiesta como un proceso eritematoso y edematoso de la zona de la mandíbula (conocida como "mandíbula abultada"). A medida que progresa, la tumoración se vuelve fluctuante y produce fístulas purulentas. La enfermedad se propaga al tejido contiguo, el hueso y los ganglios linfáticos de la cabeza y el cuello. Los síntomas de la actinomicosis torácica son parecidos a los de una infección pulmonar subaguda: fiebre leve, tos y esputo purulento. Tarde o temprano se destruye el tejido pulmonar, las fístulas experimentan erupción a través de la pared torácica y puede ocurrir invasión de las costillas. La actinomicosis abdominal a menudo se presenta tras una apendicitis o una úlcera perforada. En la cavidad peritoneal, los hallazgos patológicos son los mismos, pero puede resultar afectado cualquiera de varios órganos. La actinomicosis genital es poco común en las mujeres y se debe a la colonización de un dispositivo intrauterino con invasión subsiguiente.

Se puede establecer el diagnóstico mediante el análisis de pus de las fístulas purulentas, el esputo o las muestras de tejido para detectar la presencia de gránulos de sulfuro. Los gránulos son duros, lobulados y constan de tejido y filamentos bacterianos, que tienen forma de bastón en la periferia. Se debe efectuar cultivo anaerobio de las muestras en los medios apropiados. Para el tratamiento es indispensable la administración prolongada de penicilina (seis a 12 meses). La clindamicina o la eritromicina son eficaces en pacientes alérgicos a la penicilina. Algunas veces se necesita la escisión quirúrgica y el drenaje.

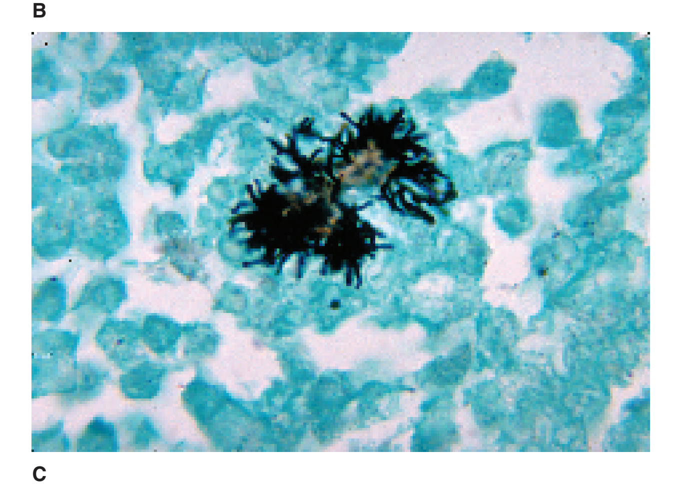
2. *Propionibacterium.* Las especies de *Propionibacterium* son miembros de la microflora habitual de la piel, cavidad bucal, colon, conjuntivas y el conducto auditivo externo. Sus productos metabólicos comprenden ácido propiónico, del cual deriva el nombre del género. En la tinción de Gram son muy polimorfos y muestran extremos curvos, en palillo de tambor o punteados de formas largas con una tinción irregular en forma



A



B



C

FIGURA 21-1 Especies del género *Actinomyces*. **A:** Colonia de especies de *Actinomyces* después de 72 h de cultivo en agar con infusión de cerebro y corazón, que por lo general produce colonias de casi 2 mm de diámetro; a menudo se les denomina colonias "de dientes molares". (Cortesía de CDC Public Health Image Library, L. Georg.) **B:** Gránulo de *Actinomyces* en tejido con tinción de Brown y Breen. Aumento original × 400. Los filamentos de los bacilos ramificados son visibles en la periferia del gránulo. Estos gránulos suelen denominarse "gránulos de azufre" debido a su color amarillo burdo no teñido. (Cortesía de CDC Public Health Image Library.) **C:** *Actinomyces naeslundii* en un absceso cerebral teñido con tinción con metilamina argéntica. Son visibles los bacilos ramificados. Aumento original × 1 000. (Cortesía de CDC Public Health Image Library, L. Georg.)

de gota o microesfera, y a veces formas cocoides o esféricas. *Propionibacterium acnes*, a menudo considerado un microorganismo patógeno oportunista, produce la enfermedad del acné vulgar y se relaciona con diversos trastornos inflamatorios. Este microorganismo causa acné cuando produce lipasas que desdoblan ácidos grasos libres fuera de los lípidos de la piel. Estos ácidos grasos pueden producir inflamación del tejido que contribuye a la formación del acné. Además, *P. acnes* suele ser una causa de infecciones posoperatorias de heridas quirúrgicas, sobre todo las que implican la inserción de dispositivos, por ejemplo, infecciones de prótesis articulares, en particular del hombro, infecciones de derivaciones del sistema nervioso central, osteomielitis, endocarditis y endoftalmitis. Puesto que es parte de la microflora cutánea habitual, *P. acnes* a veces contamina los cultivos de sangre o líquido cefalorraquídeo que se obtienen al penetrar la piel. Por lo tanto, es importante (pero a menudo difícil) distinguir un cultivo contaminado de uno que es positivo y que indica infección.

3. *Clostridium*. Los clostridios son bacilos grampositivos, formadores de esporas (capítulo 11).

B. Cocos grampositivos

El grupo de los cocos grampositivos anaerobios ha experimentado una expansión taxonómica muy importante. Muchas especies de *Peptostreptococcus* fueron reasignadas a nuevos géneros como *Anaerococcus, Finegoldia* y *Peptoniphilus*. Las especies que contienen estos géneros, al igual que *Peptococcus niger*, son miembros importantes de la microflora habitual de la piel, la cavidad bucal, las vías respiratorias altas, el tubo digestivo y el aparato genitourinario de la mujer. Los miembros de este grupo son microorganismos patógenos oportunistas y muy a menudo se detectan en infecciones mixtas, sobre todo de muestras que no se obtienen en forma meticulosa. Sin embargo, estos microorganismos se han relacionado con infecciones graves como abscesos cerebrales, infecciones pleuropulmonares, fascitis necrosante y otras infecciones profundas de la piel y los tejidos blandos, infecciones intraabdominales e infecciones del aparato genital femenino.

PATOGENIA DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

Las infecciones causadas por anaerobios suelen deberse a combinaciones de bacterias que funcionan en patogenicidad sinérgica. Aunque los estudios sobre la patogenia de las infecciones anaerobias a menudo se han centrado en una sola especie, es importante reconocer que las infecciones por anaerobios muy a menudo se deben a varias especies de estos últimos que actúan en conjunto para producir infección.

B. fragilis es un microorganismo patógeno muy importante entre los anaerobios que forman parte de la microflora habitual. La patogenia de la infección por anaerobios se ha estudiado en forma muy amplia con *B. fragilis* utilizando un modelo de rata de infección intraabdominal, que en muchos aspectos se parece a la enfermedad de los seres humanos. Se produce una secuencia característica después que se coloca contenido del colon (que incluye *B. fragilis* y un anaerobio

facultativo como *E. coli*) con una aguja, capsula de gelatina u otro medio en la cavidad abdominal de las ratas. Un alto porcentaje de los animales del estudio fallece por septicemia causada por el anaerobio facultativo. Sin embargo, si los animales son tratados inicialmente con gentamicina, un fármaco eficaz contra el anaerobio facultativo pero no contra *Bacteroides,* algunos de ellos mueren y, después de algunos días, los animales que sobreviven tienen abscesos intraabdominales por la infección por *Bacteroides*. El tratamiento con gentamicina y clindamicina, un fármaco eficaz contra *Bacteroides,* evita la septicemia inicial y la aparición subsiguiente de abscesos abdominales.

Los polisacáridos capsulares de los microorganismos *Bacteroides* son factores de virulencia importantes. Una característica singular de las infecciones por *B. fragilis* es la capacidad del microorganismo de desencadenar la formación de abscesos como único microorganismo infectante. Cuando se inyectan en el abdomen de la rata, los polisacáridos purificados de *B. fragilis* producen la formación de abscesos, en tanto que los de otras bacterias (p. ej., *Streptococcus pneumoniae* y *E. coli*) no lo producen. El mecanismo por el cual la cápsula de *B. fragilis* provoca la formación de abscesos no se comprende bien.

Las especies del género *Bacteroides* tienen lipopolisacáridos (endotoxinas; capítulo 9), pero carecen de las estructuras de lipopolisacárido con actividad endotóxica (que incluyen ácido β-hidroximirístico). Los lipopolisacáridos de *B. fragilis* son mucho menos tóxicos que los de otras bacterias gramnegativas. Por consiguiente, la infección causada por *Bacteroides* no produce directamente los signos clínicos de septicemia (p. ej., fiebre y choque) tan importantes en las infecciones causadas por otras bacterias gramnegativas. Cuando estos signos clínicos aparecen en la infección por *Bacteroides* son resultado de la respuesta inmunitaria inflamatoria a la infección.

B. fragilis elabora diversas enzimas importantes en las enfermedades. Además de proteasas y neuraminidasas, se producen dos citolisinas que actúan en conjunto para producir hemólisis de eritrocitos. En la mayor parte de las cepas que se aíslan de hemocultivos se detecta una enterotoxina capaz de producir diarrea y cuyo gen está contenido en una isla de patogenicidad.

B. fragilis produce una superoxido dismutasa y puede sobrevivir en presencia de oxígeno por algunos días. Si se detecta un anaerobio facultativo como *E. coli* en el sitio de la infección, puede consumir todo el oxígeno disponible y generar un entorno en el que proliferen especies de *Bacteroides* y otros anaerobios (véase antes).

De la misma manera, *F. necrophorum* posee importantes factores de virulencia que le permiten causar el síndrome de Lemierre y otras infecciones invasivas graves. Uno de estos factores es una leucotoxina que posiblemente produce la necrosis observada en estas infecciones. Otros factores son una hemaglutinina, una hemolisina y lipopolisacárido (endotoxina). Además, *F. necrophorum* es capaz de causar agregación de plaquetas. Aun no se ha dilucidado la interacción patógena exacta, si es que existe, entre tales factores en la patogenia de las infecciones en seres humanos.

Muchas bacterias anaerobias producen heparinasa, colagenasa y otras enzimas que lesionan o destruyen tejidos. Es muy probable que las enzimas desempeñen una función en la patogenia de las infecciones por anaerobios mixtos, aunque los experimentos de laboratorio no han podido definir la importancia específica.

CUADRO 21-2 Bacterias anaerobias e infecciones representativas relacionadas

Abscesos cerebrales
Peptoestreptococos, *Fusobacterium nucleatum* y otros
Infecciones bucofaríngeas
Anaerobios bucofaríngeos; especies de los géneros *Actinomyces, Prevotella melaninogenica* y especies del género *Fusobacterium*
Infecciones pleuropulmonares
Peptoestreptococos; especies de *Fusobacterium; Prevotella melaninogenica, Bacteroides fragilis* en 20 a 25%; otras
Infecciones intraabdominales
Absceso hepático, anaerobios mixtos en 40 a 90%; microorganismos facultativos Abscesos abdominales; *Bacteroides fragilis;* otra microflora gastrointestinal
Infecciones del aparato genital femenino
Abscesos vulvares: peptoestreptococos y otros Abscesos tuboováricos y pélvicos: especies de *Prevotella;* peptoestreptococos; otros
Piel, tejidos blandos e infecciones óseas
Microflora anaerobia mixta; *Propionibacterium acnes*
Bacteriemia
Bacteroides fragilis; peptoestreptococos; propionibacteria; *Fusobacteria; Clostridium;* otros
Endocarditis
Bacteroides fragilis, Actinomyces

LA NATURALEZA POLIMICROBIANA DE LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

La mayor parte de las infecciones por anaerobios se relacionan con contaminación del tejido por la microflora normal de la mucosa de la cavidad bucal, la faringe, el tubo digestivo o el aparato genital. Suelen aislarse múltiples especies (cinco o seis especies, o más cuando se utilizan condiciones de cultivo normales), incluidos tanto anaerobios como anaerobios facultativos. Las infecciones bucofaríngeas, pleuropulmonares, abdominales y del aparato reproductor femenino relacionadas con la contaminación por la microflora normal de la mucosa tienen una distribución relativamente similar de anaerobios y anaerobios facultativos como microorganismos causales: alrededor del 25% tienen sólo anaerobios; cerca del 25% sólo anaerobios facultativos; y 50% tienen tanto anaerobios como anaerobios facultativos. También puede haber bacterias aerobias, pero los aerobios estrictos son mucho menos frecuentes que los anaerobios y los anaerobios facultativos. En el cuadro 21-2 se muestran las bacterias anaerobias y las infecciones representativas que se relacionan con ellas.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR ANAEROBIOS

Los signos clínicos que indican una posible infección por microorganismos anaerobios son los siguientes:

1. Secreción fétida (debida a productos derivados de ácidos grasos de cadena corta del metabolismo anaerobio)
2. Infección cercana a una superficie mucosa (los microorganismos anaerobios son parte de la microbiota normal)
3. Gas en los tejidos (producción de CO_2 y H_2)
4. Cultivos negativos para aerobios.

El diagnóstico de la infección por anaerobios se establece mediante el cultivo anaerobio de muestras obtenidas y transportadas en forma apropiada (capítulo 47). Los anaerobios crecen muy fácilmente en medios complejos como base de agar con soya y tripticasa, agar con sangre de Schaedler, agar con brucela, agar con infusión de cerebro y corazón, y otros, cada uno con bastantes complementos (p. ej., hemina, vitamina K_1, sangre). Un medio complejo selectivo que contiene kanamicina se utiliza en forma paralela. La kanamicina (al igual que todos los aminoglucósidos) no inhibe el crecimiento de anaerobios estrictos; por consiguiente, les permite proliferar sin ser superados por los anaerobios facultativos de crecimiento rápido. Los cultivos se incuban a una temperatura de 35 a 37 °C en una atmósfera anaerobia que contiene CO_2.

La morfología de la colonia, la pigmentación y la fluorescencia ayudan a identificar a los anaerobios. Las actividades bioquímicas y la producción de ácidos grasos de cadena corta se determinan mediante la cromatografía con gas líquido para la confirmación del diagnóstico de laboratorio.

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

El tratamiento de las infecciones por anaerobios mixtos consiste en el drenaje quirúrgico (en la mayor parte de los casos) más el tratamiento antimicrobiano.

El grupo de microorganismos de *B. fragilis* que se aísla en infecciones abdominales y otras siempre produce lactamasa β, al igual que muchas cepas de las especies *P. bivia* y *P. disiens* detectadas en las infecciones del aparato genital femenino. Por suerte, estas lactamasas β son inhibidas por combinaciones de inhibidores de lactam β y lactamasa β como ampicilina-sulbactam. El tratamiento con antimicrobianos (diferentes a la penicilina G) es necesario para tratar las infecciones por estos microorganismos. Cuando menos dos tercios de las cepas de *P. melaninogenica* de las infecciones pulmonares y bucofaríngeas también producen lactamasa β.

Los fármacos más activos para tratar las infecciones por anaerobios son clindamicina y metronidazol, aunque la resistencia a la clindamicina en el grupo de *B. fragilis* se ha incrementado en la última década. Se prefiere la clindamicina para las infecciones supradiafragmáticas. Unos cuantos anaerobios son resistentes a la clindamicina (excepto el grupo *B. fragilis*) y unos pocos, si es que los hay, son resistentes al metronidazol. Otros fármacos son cefoxitina, cefotetan, algunas de las otras cefalosporinas más recientes y piperacilina, pero estos fármacos no son tan activos como la clindamicina y el metronidazol. Los antibióticos carbapenémicos como ertapenem, imipenem, meropenem y doripenem tienen una actividad eficaz contra muchos anaerobios y la resistencia todavía es infrecuente. La tigeciclina tiene una actividad *in vitro* satisfactoria contra diversos anaerobios, como el grupo de *B. fragilis.* La penicilina G sigue siendo el fármaco de elección para tratar las infecciones por anaerobios que no son causadas por especies *Bacteroides* y *Prevotella* productoras de lactamasa β.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Las bacterias anaerobias son microorganismos que no proliferan en presencia de oxígeno y necesitan manipulación especial para recuperarlas del material clínico.
- Los anaerobios constituyen un componente importante de la microbiota normal del ser humano, aunque algunos producen exotoxinas potentes que ocasionan infecciones graves que pueden ser letales.
- Los anaerobios muchas veces están implicados en infecciones bacterianas mixtas cuando una barrera importante de la mucosa ha sido transgredida, como en el caso de traumatismos.
- *B. fragilis* es uno de los anaerobios gramnegativos aislados con mayor frecuencia en material clínico; tiene una cápsula que puede ocasionar la formación de abscesos.
- El tratamiento de las infecciones por anaerobios exige drenar abscesos y aplicar antibióticos como penicilina (contra gérmenes que no producen lactamasa β), clindamicina, cefoxitina, metronidazol y los carbapenémicos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 55 años de edad acude a su médico por presentar tos intensa y producción de esputo purulento. Su aliento tiene un olor fétido muy desagradable. Las radiografías torácicas muestran una gran cantidad de líquido en el espacio pleural izquierdo y una cavidad pulmonar de 5 cm con un nivel hidroaéreo. Se inserta una aguja a través de la pared torácica y se retira algo del líquido del espacio pleural; es espeso, de color gris amarillento y maloliente. ¿Cuál de los siguientes microorganismos o series de microorganismos muy probablemente se cultivará del líquido pleural?
(A) *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* y enterococos
(B) *Prevotella bivia*, peptoestreptococos y *Staphylococcus epidermidis*
(C) *Prevotella melaninogenica*, especies del género *Fusobacterium* y estreptococos viridans
(D) Especies del género *Propionibacterium,* peptoestreptococos y *Staphylococcus aureus*
(E) *Streptococcus pneumoniae*

2. Un joven de 18 años de edad presenta fiebre con dolor en el cuadrante inferior derecho del abdomen. Después de la valoración inicial es llevado al quirófano. Durante la intervención quirúrgica, se identifica un apéndice roto con un absceso. Se cultiva *Bacteroides fragilis* del líquido del absceso. ¿Cuál de los siguientes factores favorece la formación del absceso por *Bacteroides fragilis*?
(A) Lipopolisacárido
(B) Cápsula

(C) Superóxido dismutasa
(D) Pilosidades
(E) Toxina leucocidina

3. Las infecciones causadas por *Bacteroides* se pueden tratar con todos los siguientes antibióticos, *excepto*
(A) Ampicilina-sulbactam
(B) Clindamicina
(C) Metronidazol
(D) Penicilina
(E) Cefoxitina

4. Un joven de 17 años de edad, estudiante de secundaria, presenta una mononucleosis infecciosa. Unas dos semanas después presenta fiebre mucho más alta, agravamiento de una faringitis, imposibilidad para deglutir y dolor intenso en el cuello y el tórax. Al ingresarse presenta signos de septicemia e insuficiencia respiratoria. ¿Cuál es el microorganismo que más probablemente produce esta complicación?
(A) *Fusobacterium necrophorum*
(B) *Bacteroides ovatus*
(C) *Prevotella melaninogenica*
(D) *Clostridium tetani*
(E) *Actinomyces israelii*

5. El fármaco de elección para tratar las infecciones causadas por *Actinomyces* es
(A) Tigeciclina
(B) Cefoxitina
(C) Metronidazol
(D) Imipenem
(E) Penicilina

6. Todas las afirmaciones siguientes sobre anaerobios son verdaderas *excepto*
(A) Poseen la enzima citocromooxidasa
(B) Muchas especies son parte de la microbiota habitual del ser humano
(C) A menudo se les detecta junto con anaerobios en casos de infecciones complicadas
(D) Se necesitan técnicas especiales para asegurar su recuperación de las muestras clínicas
(E) Algunas especies toleran más la exposición al oxígeno que otras

7. ¿Cuál de los siguientes anaerobios se vincula con la enfermedad de Lemierre, infección grave de la cabeza y el cuello?
(A) *Prevotella melaninogenica*
(B) *Bacteroides thetaiotamicron*
(C) *Porphyromonas gingivalis*
(D) *Peptococcus niger*
(E) *Fusobacterium necrophorum*

8. La identificación definitiva de un anaerobio se consigue mejor por medio de
(A) Morfología de colonias en medios anaerobios
(B) La presencia de pigmento
(C) Susceptibilidad a diversos discos antimicrobianos
(D) Análisis de ácidos grasos de la pared del microorganismo por medio de la cromatografía de gas-líquido
(E) Morfología con tinción de Gram

9. Un sujeto cuya higiene dental es deficiente acude para ser atendido por una zona indurada e hinchada en el área mandibular. En la exploración se advierte la salida de material purulento de un pequeño orificio. Dicho material es amarillento y hay algunos gránulos visibles. En el material se realiza tinción de Gram y se identifican bacilos grampositivos pleomórficos de ramas cortas, junto con células que sugieren inflamación aguda y crónica. ¿Cuál de los microorganismos siguientes podría ser el causante?
(A) *Bacteroides fragilis*
(B) *Lactobacillus acidophilus*
(C) *Clostridium perfringens*
(D) *Actinomyces israelii*
(E) *Staphylococcus aureus*

Respuestas

1. C	4. A	7. E
2. B	5. E	8. D
3. D	6. A	9. D

BIBLIOGRAFÍA

Cohen-Poradosu R, Kasper DL: Anaerobic infections: General concepts. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Finegold SM, Song Y: Anaerobic cocci. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Garrett WS, Onderdonk AB: *Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas*, and *Fusobacterium* species (and other medically important gram-negative bacilli). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Hall V: *Actinomyces*—Gathering evidence of human colonization and infection. *Anaerobe* 2008;14:1.

Kononen E: Anaerobic gram-positive nonsporulating bacilli. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Kononen E, Wade WG, Citron DM: *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative rods. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Onderdonk AB, Garrett WS: Gas gangrene and other *Clostridium*-associated diseases. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Reddy P, Bleck TP: *Clostridium botulinum* (botulism). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Reddy P, Bleck TP: *Clostridium tetani* (tetanus). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Riordan T: Human infection with *Fusobacterium necrophorum* (Necrobacillosis) with a focus on Lemierre's syndrome. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:622.

Song Y, Finegold SM: *Peptostreptococcus, Finegoldia, Anaerococcus, Peptoniphilus, Veillonella*, and other anaerobic cocci. En Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Stevens DL, Bryant AE, Berger A, Von Eichel-Streiber C: *Clostridium*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Wexler HM. *Bacteroides*: The good, the bad and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:593.

CAPÍTULO

22

Legionelas, Bartonelas y bacterias patógenas poco comunes

LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y OTRAS LEGIONELAS

Un brote de neumonía en personas que acudían a la convención de la Legión Estadounidense en Filadelfia, a la que se dio amplia difusión, fue el punto de partida de investigaciones que definieron la participación de *Legionella pneumophila* y las legionelas en él. Desde 1947, se hizo el diagnóstico retrospectivo de otros brotes de trastornos respiratorios causados por microorganismos similares. Se conocen docenas de especies de *Legionella,* algunas con múltiples serotipos. *L. pneumophila* es la causa principal de enfermedad en seres humanos; *Legionella micdadei* y otras especies a veces ocasionan neumonía. Las demás legionelas rara vez se aíslan de enfermos o se les identifica sólo en el entorno.

Morfología e identificación

L. pneumophila es la bacteria prototípica del grupo. Las legionelas de importancia primaria en medicina se incluyen en el cuadro 22-1.

A. Microorganismos típicos

Las legionelas son bacterias gramnegativas aerobias difíciles, de 0.5 a 1 μm de ancho y 2 a 50 μm de largo (figura 22-1). Casi no captan la tinción de Gram y no se les identifica en muestras clínicas teñidas por dicha técnica. Es necesario realizar frotis tratados con el método de Gram si se sospecha la proliferación de *Legionella* en medios de agar. Como contracolorante habrá que usar fucsina básica (0.1%), porque la safranina apenas si tiñe dicha bacteria. Los colorantes de plata, como el de Warhin-Starry y el de Dieterle, pueden utilizarse para detectar legionelas en tejidos de inclusión. Es notable que *L. micdadei* puede ser positiva a tinción acidorresistente.

B. Características del cultivo y crecimiento

Las legionelas pueden multiplicarse en medios complejos, como agar de extracto de levadura en carbón amortiguado con cetoglutarato α, L-cisteína y hierro (BCYDE) a pH de 6.9, temperatura de 35 °C y 90% de humedad. Es posible añadir antibióticos para así convertirlo en medio selectivo para *Legionella.* El carbón vegetal actúa como desintoxicante. Las legionelas proliferan con lentitud y por lo regular las colonias son visibles sólo después de tres días de incubación. Aquellas que aparecen después de una noche de incubación no pertenecen a esta especie. Las colonias son redondas o planas con bordes precisos; su color varía desde incoloro hasta rosa o azul iridiscente y son traslúcidas o moteadas. Es frecuente que las características morfológicas de la colonia varíen y éstas puedan perder rápidamente su color y rasgos típicos. Otros géneros de bacterias proliferan en el medio BCYE y es importante diferenciarlos de *Legionella* por medio de tinción de Gram y otras técnicas.

Las colonias sospechosas requieren identificación definitiva por métodos diferentes a la valoración bioquímica dado que las legionelas son inertes desde un enfoque bioquímico. Las pruebas de confirmación incluyen pruebas de anticuerpo fluorescente directo, secuenciación del gen 16SrRNA y empleo de espectrometría de masas de tiempo de vuelo por desorción-ionización de láser asistida con matriz (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-fligt mass spectrometry*).

Las legionelas son catalasa positivas. *L. pneumophila es* oxidasa positiva; la actividad de oxidasa es variable en otras legionelas. *L. pneumophila* hidroliza el ácido hipúrico, pero no las demás legionelas. Muchos microorganismos de este tipo producen gelatinasa y lactamasa β; *L. micdadei* no elabora ninguna de las dos enzimas.

Antígenos y productos celulares

Según expertos, la especificidad antigénica de *L. pneumophila* depende de estructuras antigénicas complejas. Se han identificado como mínimo 16 serogrupos de *L. pneumophila;* el serogrupo 1 produjo un brote de legionelosis en 1976 y constituye el serogrupo más frecuente aislado de seres humanos. Mediante la técnica de identificación serológica de grupo es imposible identificar a *Legionella* porque hay antigenicidad cruzada entre sus diferentes especies. En ocasiones, otras bacterias gramnegativas también pueden mostrar reacción cruzada con antisuero contra *L. pneumophila.*

Las legionelas producen de manera característica ácidos grasos de cadena ramificada de 14 a 17 carbonos. Cabe utilizar la cromatografía de gas líquido para definir e identificar las diversas legionelas.

Las legionelas sintetizan proteasas, fosfatasa, lipasa, DNasa y RNasa. La principal proteína en la secreción, que es una metaloproteasa, posee actividad hemolítica y citotóxica; sin embargo, no se ha demostrado que tal proteína sea un factor de virulencia necesario.

Patogenia y anatomía patológica

Las legionelas están distribuidas de manera extensa en entornos húmedos y cálidos; se les localiza en lagos, corrientes y otros cúmulos de agua. Se multiplican en la forma de amebas

apter 22_Carroll_4R.indd 301 14/04/16

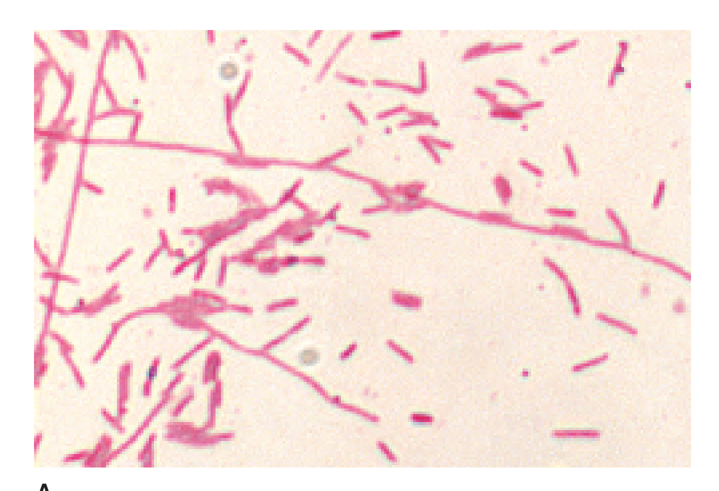
CUADRO 22-1 Especies de *Legionella* obtenidas de seres humanos

Especie	Neumonía	Fiebre de Pontiac
Legionella pneumophila	+	Serogrupos 1 y 6
Legionella micdadei	+	
Legionella gormanii	+	
Legionella dumoffii	+	
Legionella bozemanii	+	
Legionella longbeachae	+	
Legionella wadsworthii	+	
Legionella jordanis	+	
Legionella feeleii	+	+
Legionella oakridgensis	+	
Legionella birminghamensis	+	
Legionella cincinnatiensis	+	
Legionella hackeliae	+	
Legionella lansingensis	+	
Legionella parisiensis	+	
Legionella sainthelensi	+	
Legionella tusconensis	+	

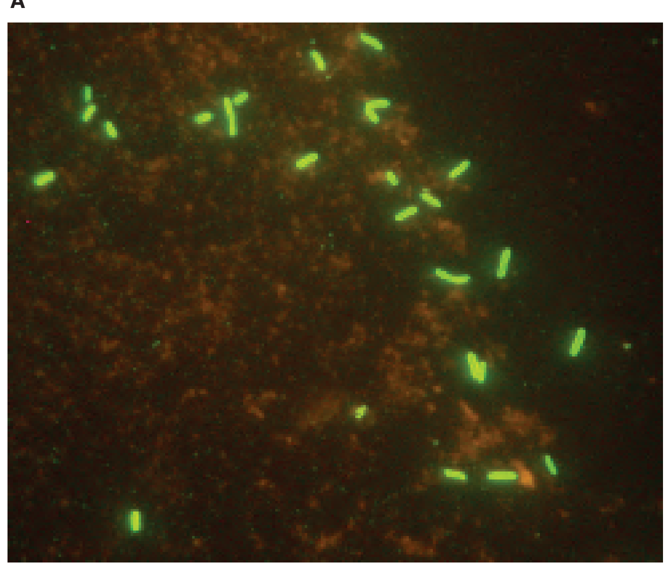
de vida libre y coexisten con ellas en biopelículas (véase más adelante sección de Epidemiología y control). La infección de seres humanos debilitados o inmunodeprimidos suele presentarse después de la inhalación de bacterias de aerosoles generados por sistemas contaminados de aire acondicionado, cabezales de regaderas y fuentes de agua similares. *L. pneumophila* suele ocasionar una infiltración lobular, segmentaria o irregular de pulmones. En el procedimiento histológico, la imagen es similar a la generada por otras bacterias patógenas. La neumonía purulenta aguda que afecta los alvéolos aparece con un exudado intraalveolar denso de macrófagos, polimorfonucleares, eritrocitos y material proteináceo. Muchas de las legionelas en las lesiones están dentro de células fagocíticas. Se observa escasa infiltración intersticial o incluso no hay inflamación de los bronquiolos y vías respiratorias superiores.

Los datos sobre la patogenia de la infección por *L. pneumophila* por lo común han provenido de estudios de células aisladas de seres humanos y también de animales susceptibles como los cobayos.

L. pneumophila penetra y prolifera de manera fácil en macrófagos y monocitos de alvéolos de seres humanos y los polimorfonucleares no la destruyen de modo eficaz. *Legionella* no necesita opsonización por C3b o anticuerpos para incorporarse a los macrófagos. Un factor de virulencia importante en la invasión del macrófago es la proteína Mip que favorece la adhesión y la fagocitosis. En el interior de la célula, las bacterias individuales están dentro de vacuolas fagosómicas (vacuolas que contienen *Legionella* [LCV, *Legionella-containing vacuole*], pero los mecanismos de defensa de los macrófagos no penetran y por ello se detienen en ese punto. En vez de esto, las LCV no se fusionan con los gránulos lisosómicos. La fase metabólica oxidativa repentina e intensa del fagocito disminuye. Las LCV muestran acidificación menor que las que contienen otras



A



B

FIGURA 22-1 **A:** Tinción de Gram de *Legionella pneumophila*: los microorganismos captan débilmente la fucsina y casi no lo hacen con la safranina. Amplificación original × 1 000 (Cortesía de La Colección de Imágenes de Salud Pública de los CDC). **B:** Tinción por anticuerpos fluorescentes directos de *Legionella* de especies mixtas, y para ello se usan anticuerpos contra antígenos del género *Legionella* conjugados con fluoresceína. Amplificación original × 1 000 (Cortesía de R. Nadarajah).

partículas ingeridas. Los ribosomas, las mitocondrias y las vesículas diminutas acumulan en su entorno LCV, lo cual impide el reconocimiento por el sistema inmunitario celular. Además de este proceso, la supervivencia del fagosoma y la duplicación del microorganismo son favorecidas por la elaboración de un sistema de secreción de tipo IV, Dot/Icm, esencial para la virulencia de *L. pneumophila*. Las bacterias se multiplican dentro de las vacuolas hasta que aquéllas son numerosas, las células se destruyen, las bacterias se liberan y entonces tiene lugar la infección de otros macrófagos. La presencia de hierro (hierro de transferrina) también es fundamental para el proceso de multiplicación intracelular de las bacterias.

Manifestaciones clínicas

La infección asintomática es frecuente en todos los grupos de edad, como lo demuestran los valores altos de anticuerpos

específicos. La incidencia de enfermedad importante desde el punto de vista clínico alcanza su máximo en varones mayores de 55 años de edad. Aunque persiste como una rareza, la enfermedad se ha informado en niños. Los factores de riesgo alto que se han asociado incluyen tabaquismo, abuso de alcohol, diabetes mellitus, bronquitis crónica y enfisema o enfermedad cardiovascular, tratamientos esteroideos e inmunodepresores (p. ej., en el trasplante renal), quimioterapia por cáncer y, en fecha más reciente, como una complicación del tratamiento antitumoral con factor de necrosis tumoral (TNF, *tumor necrosis factor*) α, en especial infliximab o adalimumab. Cuando surge neumonía en los pacientes con dichos factores de riesgo, hay que buscar *L. pneumophila* como su causa.

La infección puede ocasionar un cuadro febril indefinido breve o un trastorno grave de evolución rápida que incluye fiebre alta, escalofríos, malestar general, tos no productiva, hipoxia, diarrea y delirio. En las radiografías de tórax, se observan zonas de consolidación con frecuencia multilobulares irregulares. Los pacientes inmunodeprimidos pueden generar neumonía cavitaria y derrames pleurales. También se observa leucocitosis, hiponatremia, hematuria (e incluso insuficiencia renal), o anomalías de la función hepática. Durante algunos brotes, la mortalidad ha llegado a 10%. El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y en la exclusión de otras causas de neumonía por medio de pruebas de laboratorio. Demostrar la presencia de *Legionella* en muestras clínicas permite confirmar con rapidez el diagnóstico específico. En la fase inicial de la infección por *L. pneumophila* serogrupo 1, se puede utilizar el método de detección de antígeno de *Legionella* en orina, el cual es muy útil si el resultado es positivo. Este último también se puede confirmar mediante cultivo de *Legionella* o con métodos serológicos, pero los resultados de tales procedimientos pueden tardar más allá de la fecha en que debe comenzar el tratamiento específico.

L. pneumophila también produce una enfermedad llamada "fiebre de Pontiac" porque el síndrome clínico en cuestión surgió en un brote en Michigan. Tal trastorno se caracteriza por fiebre y escalofríos, mialgias, malestar general y cefalea y evoluciona en un lapso de 6 a 12 h y persiste por dos a cinco días. También se observan mareos, fotofobia, rigidez de cuello y confusión. Las manifestaciones respiratorias son menos intensas en la fiebre de Pontiac que en la legionelosis e incluyen tos leve y faringitis. Esta enfermedad se autolimita y no es necesaria la antibioticoterapia.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

En infecciones de seres humanos, los microorganismos pueden aislarse del esputo expectorado (si está disponible), lavados bronquiales, líquido pleural, muestras de biopsia pulmonar o (rara vez) sangre. La obtención de *Legionella* del esputo es más difícil debido al predominio de bacterias de la microbiota normal y porque a menudo la tos es seca. Rara vez se identifica *Legionella* de otros sitios anatómicos.

B. Frotis

Es imposible identificar legionelas en frotis de muestras clínicas teñidas con técnica de Gram. Se puede corroborar el diagnóstico con el estudio de anticuerpos fluorescentes directos en muestras, pero es poca su sensibilidad, en comparación con los cultivos, y pocas veces se realiza. En muestras de tejido a veces se utilizan tinciones argénticas.

C. Cultivos

Las muestras se cultivan en agar de BCYE con y sin antibióticos (véase antes). Los microorganismos cultivados se identifican con rapidez mediante tinción de inmunofluorescencia. La MALDI-TOF MS permite confirmar el diagnóstico rápido de cepas aisladas en cultivos.

D. Pruebas específicas

En ocasiones, los antígenos de *Legionella* se demuestran en la orina del paciente con métodos inmunológicos. La técnica para detectar antígeno en dicho líquido es específica para el serogrupo 1 de *L. pneumophila*. De este modo, el método anterior (antígeno en orina) no es útil para el diagnóstico de 20 a 70% de las infecciones por *Legionella*, lo cual depende del sitio geográfico; es mejor no depender de ese único método para descartar infecciones por *Legionella*. Los estudios moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), que amplifican genes como el de *mip* y el 16SrRNA, entre otros, se han utilizado en laboratorios capaces de crear y verificar sus propios ensayos. Sin embargo, la especificidad ha sido un aspecto relacionado con contaminación de reactivos con DNA de *Legionella* que se encuentra en fuentes de agua. En Estados Unidos, no se dispone de pruebas avaladas por la FDA para detección de *Legionella*.

E. Serología

Las concentraciones de anticuerpos contra legionelas aumentan con lentitud durante la enfermedad. Los métodos serológicos poseen sensibilidad de 60 a 80% y especificidad de 95 a 99%. Las técnicas de este tipo son muy útiles para el diagnóstico retrospectivo de brotes de infecciones por *Legionella*.

Inmunidad

Los sujetos infectados sintetizan anticuerpos contra *Legionella*, pero el punto máximo de la reacción en que surgen tal vez no se produzca antes de cuatro a ocho semanas de ocurrida la infección. No se ha definido la participación de las respuestas mediadas por anticuerpos y por células en la inmunidad protectora en seres humanos. Los animales estimulados con dosis subletales de *L. pneumophila* virulenta, *L. pneumophila* avirulenta o de una vacuna proteínica secretora mayor son inmunes a las dosis letales ulteriores de *L. pneumophila*. Se producen las respuestas inmunitarias humoral y mediada por células; esta última es importante como forma de inmunidad protectora, debido a la infección intracelular y la proliferación de *Legionella*.

Tratamiento

L. pneumophila es un parásito intracelular de macrófagos, otras células fagocíticas y quizá de más células del ser humano. Otras legionelas también pueden proliferar de modo importante dentro de macrófagos de personas; por esa razón, para que los antibióticos sean útiles para combatir las infecciones

por este microorganismo deben penetrar en los fagocitos y poseer actividad biológica en el interior. Los macrólidos (eritromicina, azitromicina, telitromicina y claritromicina), las quinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina) y las tetraciclinas (doxiciclina) son eficaces. Los lactámicos β, los monobactámicos y los aminoglucósidos son ineficaces; además, muchas legionelas elaboran lactamasa β. A veces se necesita el tratamiento durante tres semanas, según la situación clínica. El tratamiento no debe interrumpirse, excepto que el paciente permanezca afebril durante 48 a 72 horas.

Epidemiología y control

La época del año en que las infecciones por *Legionella* alcanzan su mayor incidencia es a finales del verano y el otoño. Los viajes, en particular los cruceros, son un factor de riesgo. La transmisión suele darse por inhalación o ingestión, seguida por aspiración de aerosoles de sistemas de agua contaminados. El hábitat natural de las legionelas lo constituyen lagos, corrientes, ríos y sobre todo cúmulos de aguas termales y tierra. Las legionelas proliferan mejor en agua caliente en presencia de amebas y bacterias acuáticas; se multiplican en el interior de amebas de una forma muy similar a como lo hacen dentro de los macrófagos pulmonares. Al surgir situaciones ambientales difíciles y enquistarse las amebas, éstas y las legionelas sobreviven hasta que aparecen de nuevo mejores condiciones de proliferación que permiten la salida de los microorganismos. Las legionelas, las amebas y otros microorganismos existen en biopelículas; las primeras asumen un estado sésil. Las legionelas sobreviven a métodos de tratamiento hídrico y cuando proliferan penetran en pequeñas cantidades en los sistemas de distribución de agua.

Las torres de enfriamiento y los condensadores de evaporación pueden estar muy contaminados por *L. pneumophila.* Tal vez los aerosoles que se usan en dichos equipos propaguen los microorganismos a personas susceptibles. De forma semejante, se observan vínculos entre la contaminación de sistemas hídricos residenciales y la legionelosis extrahospitalaria, y entre la contaminación de los sistemas hídricos de hospitales y la infección nosocomial por *L. pneumophila.* La hipercloración y el sobrecalentamiento de agua permiten controlar la proliferación de legionelas en el agua y en los sistemas de acondicionamiento de aire. Otras medidas más eficaces comprenden el uso de filtros en el sitio de trabajo, la ionización de cobre-plata y posiblemente el cloro-dióxido o monocloramina (véase Lin *et al*., 2011).

Verificación de conceptos

- *Legionella* se encuentra distribuida de manera extensa y abarca bacterias gramnegativas escasamente teñidas, que habitan en agua dulce y en sistemas de agua potable, donde sobreviven dentro de amebas y biopelículas. Los seres humanos se infectan con ellas por inhalación de agua contaminada.
- Se han detectado más de 50 especies de *Legionella*, pero la mayor parte de las infecciones es causada por *L. pneumophila* serogrupo 1. Entre las personas con mayor riesgo de infección se encuentran los inmunodeprimidos, como quienes han recibido trasplante de órganos sólidos o médula ósea; los fumadores o las personas con neumopatías crónicas y quienes padecen diabetes mellitus.
- La legionelosis es una infección que afecta múltiples órganos y sistemas e incluye neumonía, trastornos del tubo digestivo, delirio, y una variedad de anomalías de laboratorio. La neumonía por *Legionella* es indistinguible de otras infecciones bacterianas de las vías respiratorias inferiores.
- El diagnóstico depende de una muestra clínica de buena calidad y el uso del método de detección del antígeno de *Legionella* en orina, y del cultivo. Las pruebas serológicas en gran medida son retrospectivas y poco sensibles. Los métodos moleculares de diagnóstico no se encuentran disponibles y pueden ser poco precisos.
- *Legionella* es intracelular; por esta razón, en el tratamiento sólo usarán antibióticos con capacidad de penetrar al interior de la célula, como los macrólidos y las fluoroquinolonas.
- Los hospitales que atienden personas inmunodeprimidas deben revisar los sistemas de agua potable, en busca de *Legionella* y tratar el agua en caso de detectarla. Es posible obtener orientación en cuanto a pruebas y tratamiento con las autoridades locales de la atención de la salud y, en Estados Unidos, en los *Centers for Disease Control and Prevention*.

BARTONELLA

Las tres especies importantes desde el punto de vista médico del género *Bartonella* son *B. bacilliformis*, que causa la fiebre de Oroya y la verruga peruana; *B. quintana*, la causa de la fiebre de las trincheras y algunos casos de angiomatosis bacilar, y *B. henselae,* la cual origina la linforreticulosis benigna y que se ha vinculado con la angiomatosis bacilar. Tales trastornos poseen muchas características en común. Se conoce un pequeño grupo adicional de especies y subespecies de *Bartonella* que casi nunca se han relacionado con enfermedad en seres humanos, en particular endocarditis e incluyen: *Bartonella elizabethae,* la subespecie *berkhoffi* de *Bartonella vinsonii,* la subespecie *arupensis* de *Bartonella visonii, Bartonella koehlerae* y *Bartonella alsatica*. Hay un conjunto más grande asociado con animales; no hay informes de transmisión a personas a partir de reservorios animales.

Bartonella abarca bacilos gramnegativos pleomorfos, de proliferación lenta y difíciles de aislar en el laboratorio; se les identifica en los tejidos infectados teñidos con la técnica de impregnación argéntica de Warthin-Starry.

Bartonella bacilliformis

Se conocen dos fases de la infección por *B. bacilliformis*: la inicial o **fiebre de Oroya**, es una anemia infecciosa grave; la segunda es la fase eruptiva, o **verruga peruana**, que suele comenzar dos a ocho semanas más tarde, aunque puede hacerlo sin que aparezca la fiebre mencionada.

La fiebre de Oroya se caracteriza por la evolución rápida de una anemia intensa por destrucción de eritrocitos, esplenomegalia y hepatomegalia, y hemorragia en el interior de los ganglios linfáticos. Masas de bartonelas llenan el citoplasma

de células que revisten los vasos sanguíneos; la inflamación endotelial puede llevar a oclusión vascular y trombosis. La mortalidad de la fiebre de Oroya no tratada se acerca a 85%. El diagnóstico se obtiene al examinar frotis de sangre teñidos y cultivos del mismo material en un medio semisólido.

Después de la infección aguda, en semanas a meses aparece una segunda etapa de la infección llamada verruga peruana, que se caracteriza por lesiones cutáneas nodulares vasculares en recolecciones sucesivas. Esta infección dura alrededor de un año y produce poca reacción sistémica; no es letal. Se han descrito lesiones de la mucosa e internas. *Bartonellae* puede verse en los granulomas; los resultados en hemocultivos a menudo son positivos, pero no hay anemia.

B. bacilliformis produce una proteína extracelular llamada deformina que favorece la deformación (indentación) de las membranas eritrocíticas y los flagelos proveen a los microorganismos de la fuerza mecánica para invadir a los eritrocitos. La duplicación del microorganismo tiene lugar dentro de una vacuola endocítica facilitada por proteínas de la membrana externa y fragmentos de la membrana eritrocítica creados en el momento de la unión y la deformación de la membrana. *B. bacilliformis* también invade células endoteliales y otros tipos de células humanas *in vitro.*

La bartonelosis se limita a las zonas montañosas de los Andes en la zona tropical de Perú, Colombia y Ecuador y la transmiten las moscas de arena del género *Lutzomyia.*

B. bacilliformis prolifera en agar nutritivo semisólido que contenga 10% de suero de conejo y 0.5% de hemoglobina. Después de 10 días o más de incubación a 28 °C, el medio se enturbia y en los frotis teñidos con método de Giemsa, se identifican los microorganismos cilíndricos y granulosos.

Es importante administrar ciprofloxacina, doxiciclina, ampicilina y sulfametoxazol-trimetroprim al menos durante 10 días para tratar a los pacientes de manera exitosa. Cabe utilizar un plan terapéutico parenteral si la persona no puede absorber los medicamentos por vía oral. El cloranfenicol por 14 días se ha utilizado para tratar de forma eficaz las infecciones por *B. bacilliformis,* en particular en Sudamérica. En combinación con las transfusiones de sangre, cuando estén indicadas, los antibióticos disminuyen en gran medida la mortalidad. El control de la enfermedad depende de eliminar las moscas de arena vectoras; son útiles insecticidas, repelentes de insectos y la eliminación de las zonas de cría de las moscas de arena. La prevención con antibióticos a veces es eficaz.

Bartonella henselae y *Bartonella quintana*

A. Linforreticulosis benigna

Suele ser un trastorno benigno, que se autolimita; se manifiesta por fiebre y linfadenopatía que aparece una a tres semanas después de estar en contacto con un gato (por lo común después de un arañazo, lamedura, mordedura o tal vez picadura de una pulga). En ese sitio, surge una lesión primaria en la piel (pápula o pústula). El estado de la persona puede parecer adecuado, pero por lo regular hay febrícula y a veces cefalea, malestar general y faringitis. Se advierte linfadenomegalia regional (más a menudo ganglios axilares, epitrocleares o cervicales) y a veces los ganglios son dolorosos al tacto, cuadro clínico que tal vez persista por semanas o incluso meses, y pueden llegar a supurar. Los casos típicos (5 a 10%) se caracterizan por linfadenopatía preauricular y conjuntivitis (síndrome oculoglandular de Parinaud). Se han descrito manifestaciones sistémicas más graves, por ejemplo meningitis, encefalopatía, lesiones óseas y retinitis. En Estados Unidos, según expertos, cada año surgen más de 22 000 casos.

El diagnóstico de linforreticulosis benigna se basa en: 1) datos sugerentes de la anamnesis y la exploración física; 2) aspiración de pus de ganglios linfáticos que no contienen bacterias detectables por cultivos corrientes, y 3) signos histopatológicos característicos con lesiones granulomatosas, que pueden incluir bacterias que se identifican en tinciones con impregnación argéntica. También se ha incluido como criterio una cutirreacción positiva, pero este dato posee sólo interés histórico. Una dilución de 1:64 o mayor en un suero único en la prueba de anticuerpo fluorescente indirecto (IFA, *indirect fluorescent antibody*) apoya con fuerza el diagnóstico, pero la obtención de una concentración diagnóstica puede ser tardía o quizá no surja en inmunodeprimidos. Se dispone de enzimoinmunoanálisis pero pueden ser menos sensibles que la prueba de IFA.

La linforreticulosis benigna es causada por *B. henselae,* una bacteria gramnegativa pleomórfica pequeña que aparece principalmente en las paredes de los capilares cerca de zonas de hiperplasia folicular o dentro de microabscesos. Los microorganismos se identifican mejor en cortes de tejidos teñidos con el método de impregnación argéntica de Warthin-Starry; también se les detecta mediante tinciones inmunofluorescentes. En esta enfermedad relativamente benigna, casi nunca se recomienda llevar a cabo cultivos de *B. henselae.*

El reservorio de *B. henselae* es el gato doméstico y la tercera parte de los gatos o más (y tal vez sus pulgas) puede estar infectada. Según expertos, el contacto con gatos infectados a través de lesiones cutáneas es la forma en que se transmite la infección.

La linforreticulosis benigna suele aparecer en personas inmunocompetentes y suele involucionar por sí sola. El tratamiento es sobre todo de sostén al brindar tranquilidad, aplicar compresas húmedas y calientes, y suministrar analgésicos. Los síntomas pueden mejorar con la aspiración de pus o la extracción quirúrgica de un ganglio linfático muy grande. En tanto informes anecdóticos demuestran que puede ser de utilidad el tratamiento con tetraciclina, azitromicina, trimetoprim-sulfametoxazol, rifampicina, gentamicina o fluoroquinolona, estudios más recientes no apoyan el uso de antibioticoterapia.

B. Angiomatosis bacilar

La angiomatosis bacilar es una enfermedad que predomina en inmunodeprimidos, sobre todo en aquéllos con sida; en personas sin inmunodepresiones, surge en raras ocasiones. En los estudios histopatológicos, la angiomatosis bacilar se caracteriza por la presencia de lesiones circunscritas con proliferación capilar lobular y vasos abiertos y redondos con células de endotelio cúbico que sobresalen al interior del vaso. Un signo notable son los histiocitos epitelioides rodeados por una matriz fibromixoide laxa. Los bacilos pleomorfos se identifican también en el tejido subendotelial después de teñirlo con el método de impregnación argéntica de Warthin-Starry. A veces se observa infiltración de las lesiones, por parte de polimorfonucleares.

La angiomatosis bacilar, en su forma común, comienza con una pápula roja cada vez mayor (similar a una frambuesa), que

a su alrededor a menudo tiene escamas y eritemas. Las lesiones se agrandan y alcanzan algunos centímetros de diámetro y se ulceran. Puede haber una o varias de ellas. El aspecto clínico suele ser semejante al del sarcoma de Kaposi en enfermos de sida, pero las dos enfermedades son diferentes desde el punto de vista histopatológico. La angiomatosis bacilar afecta prácticamente cualquier órgano. La afectación del hígado (y del bazo) se caracteriza por proliferación de espacios quísticos con sangre, rodeados de una matriz fibromixoide que contiene las bacterias; esta modalidad del trastorno ha sido llamada **púrpura hepática** y suele acompañarse de fiebre, pérdida de peso y dolor abdominal. Asimismo aparece una forma bacteriémica de la infección que incluye signos inespecíficos, como malestar general, fiebre y también reducción de peso.

El diagnóstico se confirma por los signos histopatológicos característicos y la demostración de los bacilos pleomórficos en cortes teñidos con plata. Es posible aislar *B. henselae* y *B. quintana* por cultivo directo de material de biopsia de tejido afectado obtenido con gran cuidado, para que no contenga bacterias cutáneas contaminantes. Las muestras de biopsia se homogenizan en un medio de cultivo de tejido complementado y se inoculan en agar chocolate fresco y agar en infusión de corazón, con sangre de conejo al 5%. En los mismos medios es posible inocular los cultivos de sangre teñidos por medio de lisis y centrifugación. Los cultivos deben incubarse en CO_2 al 5% a 36 °C durante un mínimo de tres semanas. Las muestras también se pueden cultivar en monocapas de cultivos de tejidos eucarióticos. Desde el punto de vista bioquímico, *B. henselae* y *B. quintana* son relativamente inertes, y esta característica incluye negatividad de las reacciones de catalasa y oxidasa y de los métodos de utilización de carbohidratos. Con técnicas para identificar enzimas preformadas, es factible hallar actividad enzimática con sustratos aminoácidos. La identificación definitiva se logra al establecer secuencias del gen de RNA 16S ribosómico en parte o en su totalidad, amplificado por la PCR. Debido a la dificultad para identificar *Bartonella* en el material clínico y la insensibilidad de los métodos moleculares actuales, muchos especialistas consideran que los métodos serológicos constituyen todavía la mejor opción. Los más utilizados son las pruebas de IFA.

La angiomatosis bacilar se trata con eritromicina o doxiciclina por vía oral (a las que se agrega gentamicina en sujetos muy graves), durante un mínimo de dos meses. Se cree que la respuesta a menudo rápida de lesiones cutáneas a la eritromicina se debe a sus efectos antiinflamatorio y antiangiógeno. Las recidivas son frecuentes, pero pueden tratarse con los mismos fármacos que se utilizaron en el comienzo del plan terapéutico.

C. Fiebre de las trincheras

También llamada fiebre quintana, se caracteriza por inicio repentino de fiebre acompañado por cefalea, malestar, síndrome de piernas inquietas y dolor tibial. Los síntomas coinciden con liberación de *B. quintana* en la sangre cada tres a cinco días y cada episodio dura cinco días. Durante la Primera Guerra Mundial, tuvo lugar un padecimiento relevante, causado por *B. quintana* y que hoy día con más frecuencia se considera causa de endocarditis con cultivo negativo y bacteriemia en indigentes.

El reservorio de *B. henselae* suele ser el gato doméstico y pacientes con este microorganismo como causa de angiomatosis por bacilos a menudo han estado en contacto con gatos o tienen antecedentes de picaduras por pulgas de gato. Los únicos reservorios conocidos de *B. quintana* son los seres humanos y el piojo.

Verificación de conceptos

- *Bartonella* abarca bacilos gramnegativos pequeños que aparecen en animales, seres humanos y sus vectores.
- Los agentes patógenos de seres humanos incluyen *B. bacilliformis*, que origina la fiebre aguda de Oroya y la verruga peruana crónica que afecta de modo predominante poblaciones de los Andes y, *B. quintana*, que ocasiona fiebre quintana, endocarditis y angiomatosis bacilar. *B. henselae* es la causa de endocarditis, linforreticulosis benigna y angiomatosis bacilar. La infección se produce por la mordedura o el arañazo de un gato, o tal vez por la picadura de sus pulgas.
- El diagnóstico de infecciones por *B. henselae* puede ser difícil, por la proliferación lenta de los microorganismos y su mejor crecimiento en medios, como el agar sangre de conejo o chocolate. Es posible demostrar los microorganismos en tejidos por medio de las tinciones de Warthin-Starry. El elemento básico es el diagnóstico serológico.
- El tratamiento de las infecciones por *Bartonella* incluye azitromicina u otros macrólidos, fluoroquinolonas y doxiciclina.

STREPTOBACILLUS MONILIFORMIS

Es un microorganismo aerobio, gramnegativo, muy pleomorfo, que forma cadenas irregulares de bacilos intercaladas con agrandamientos fusiformes y cuerpos redondos grandes. Prolifera mejor a 37 °C en medios que contienen proteína sérica, yema de huevo o almidón, pero deja de multiplicarse a 22 °C. Las formas L se pueden demostrar en muchos cultivos de este microorganismo patógeno. En los subcultivos de colonias puras de las formas L en medios líquidos, es posible obtener de nuevo los estreptobacilos. Antes se pensaba que era la única especie del género, pero en fecha reciente se ha unido a la especie nueva llamada oficialmente *Streptobacillus hongkongensis*. *S. moniliformis* es huésped habitual de la faringe de ratas y los seres humanos pueden infectarse con la mordedura de dicho animal. La enfermedad en las personas (**fiebre por mordedura de rata**) se caracteriza por fiebre séptica, erupciones de manchas rojo azuladas y petequiales, y poliartritis muy dolorosa. Otros tipos de cuadros clínicos iniciales incluyen bacteriemia, endocarditis y abscesos. El diagnóstico se confirma con resultados de hemocultivos en líquido sinovial o pus; en inoculación de ratones (no se realizan en laboratorios clínicos) y con pruebas de aglutinación sérica. Este microorganismo también ocasiona infección después de ingerirlo con la leche; en este caso, el trastorno recibe el nombre de fiebre de Haverhill y ha tenido lugar en epidemias.

No se sabe cuál es el reservorio de *S. hongkongensis*. El microorganismo se ha recolectado de un absceso periamigdalino y un codo séptico de pacientes separados en Hong Kong.

Penicilina, cefalosporinas de tercera generación y algunas fluoroquinolonas tienen actividad contra *S. moniliformis* y *S. hongkongensis*.

Spirillum minor causa la fiebre por mordedura de rata que tiene manifestaciones clínicas un poco diferentes (sodocu) (capítulo 24).

ENFERMEDAD DE WHIPPLE

Se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, diarrea, pérdida de peso y poliartralgia migratoria y es más frecuente en varones de mediana edad. El sitio primario de afectación es el intestino delgado y los ganglios linfáticos mesentéricos, pero cualquier órgano puede presentar la anomalía; se han descrito de manera más notable manifestaciones musculoesqueléticas, neurológicas, cardiacas y oftálmicas. En su cuadro histológico, se advierte notable infiltración por macrófagos y depósitos de grasa. Un elemento patognomónico de la enfermedad corresponde a las vacuolas características dentro del macrófago, que captan el ácido peryódico y colorante de Schiff (PAS, *periodic acid Schiff*). El material intracelular y extracelular que capta PAS está presente en bacilos. Desde el punto de vista histórico, los cultivos sistemáticos de muestras clínicas mostraron negatividad, pero en fecha reciente se pudo cultivar el microorganismo en células eucarióticas (fibroblastos de seres humanos, monocitos desactivados de sangre periférica). Antes de la identificación indudable del microorganismo en cultivos, la amplificación del RNA ribosómico 16S bacteriano por medio de la PCR permitió identificar la secuencia peculiar de dicho RNA de las bacterias en las lesiones. Por análisis filogenético, se ha observado que el microorganismo es un actinomiceto grampositivo que no tiene relación con género alguno conocido y se le asignó el nombre de *Troferima whipplei*. El diagnóstico de la enfermedad se hace por amplificación, mediante PCR, de una muestra apropiada (fragmento de intestino o cerebro para biopsia u otros tejidos) para identificar dicho microorganismo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los seres humanos se infectan con *Legionella pneumophila* por
   (A) Besar a una persona portadora de *Legionella*
   (B) Respirar aerosoles de origen hídrico ambiental
   (C) Sufrir la picadura de un mosquito
   (D) Consumir carne de cerdo mal cocida
2. Una niña de 11 años de edad presentó de forma aguda fiebre, escalofrío, cefalea, vómito y artralgias migratorias intensas (dolor de articulaciones) y mialgias (dolor muscular). Dos días después, manifestó maculopápulas en palmas de las manos y plantas de los pies. Al mismo tiempo mostró intenso dolor e hinchazón de la rodilla izquierda. En la exploración física, se demostró la presencia de líquido en el interior de la rodilla. En la anamnesis más detallada, indicó que ella tenía como mascota una rata. El cultivo del líquido extraído de la rodilla, elaborado en agar con sangre de cordero al 5%, mostró colonias de 2 mm después de tres días de incubación. El cultivo en caldo señaló una proliferación pequeña similar al del fruto llamado cuesco de lobo. La tinción con método de Gram indicó la presencia de un bacilo gramnegativo de 0.5 μm de ancho y 1 a 4 μm de largo. Se identificaron algunas formas notablemente largas (incluso de 150 μm) con cadenas parecidas a cuentas, tumefacciones fusiformes y grandes cuerpos redondos. El microbiólogo que analizó el frotis teñido con el método de Gram de inmediato detectó la causa de la infección, que fue
   (A) *Pasteurella multocida*
   (B) *Streptococcus moniliformis*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) *Bartonella bacilliformis*
   (E) *Yersinia pestis*
3. Un varón de 70 años de edad es llevado al médico con neumonía bilateral. En su orina se identificó el antígeno de *Legionella*. De los microorganismos siguientes: ¿cuál es el que muy probablemente causó la neumonía?
   (A) *Legionella pneumophila* serogrupo 1
   (B) *Legionela micdadei* serogrupo 4
   (C) *Legionella bozemanii* serogrupo 2
   (D) *Legionella longbeachae* serogrupo 2
   (E) Todas las mencionadas, porque el antígeno en orina muestra especificidad de género y no de especie, y no tiene especificidad de serogrupo.
4. Un varón de 65 años de edad fue llevado al servicio de urgencias y allí señalo que se sentía con fiebre y "muy cansado". Tiene una tos crónica por el tabaquismo, pero esta condición se incrementó de modo notable en la última semana, con expulsión de esputo blanquecino. El día anterior tuvo temperatura de 38 °C y diarrea acuosa. En la exploración física, se detectaron sibilancias inspiratorias y espiratorias y estertores en el campo pulmonar inferior derecho. En la radiografías de tórax, se observó un infiltrado irregular en el lóbulo inferior derecho. Las entidades patológicas por incluir en el diagnóstico diferencial de la enfermedad en este caso son
   (A) Neumonía por *Streptococcus pneumoniae*
   (B) Neumonía por *Legionella pneumophila*
   (C) Neumonía por *Haemophilus influenzae*
   (D) Neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) Todas las mencionadas
5. Los cultivos sistemáticos de esputo del paciente del ejemplo anterior permitieron la proliferación de microflora normal. La administración de ampicilina durante dos días no mejoró el cuadro clínico. Se pensó en legionelosis y se practicó broncoscopia para obtener líquido de lavado broncoalveolar, muestras profundas de vías respiratorias. De los métodos de diagnóstico siguientes, ¿cuál podría sugerir el diagnóstico de enfermedad causada por *Legionella pneumophila* serotipo 1?
   (A) Medición de antígeno de *Legionella* en orina
   (B) Anticuerpos fluorescentes directos en el líquido de lavado broncoalveolar
   (C) Cultivo del líquido broncoalveolar en el medio con carbón y extracto de levadura y antibióticos
   (D) Cuantificación de anticuerpos en pares de sueros (fases aguda y de convalecencia)
   (E) Todas las mencionadas
6. El carbón vegetal se incluye en el agar de la solución amortiguadora con carbón vegetal y extracto de levadura utilizado para el aislamiento de *Legionella pneumophila* que tiene como función
   (A) Aportar los factores de crecimiento que por lo común suministran las amebas de vida libre presentes en el agua ambiental.
   (B) Servir como fuente de carbono para la proliferación de *Legionella pneumophila*
   (C) Evitar la hemólisis de eritrocitos en el medio
   (D) Generar un fondo oscuro
   (E) Servir como desintoxicante

7. Una mujer de 23 años acude al médico, con el antecedente de febrícula y cefalea durante tres días. En la exploración física, se advierte que los ganglios linfáticos cerca del codo y de la axila izquierda están agrandados y un poco dolorosos al tacto. Alrededor de dos semanas antes visitó a un amigo cuyo gato la arañó en el brazo izquierdo; en ese sitio presentó más tarde una pápula rojiza. De los planteamientos siguientes respecto de la linforreticulosis benigna, ¿cuál es el más acertado?
   (A) Los datos histopatológicos característicos como respuesta a la infección incluyen inflamación aguda de tipo neutrófilo.
   (B) El diagnóstico se basa en antecedentes indicadores y exploración física.
   (C) Combinaciones de inhibidor de lactámicos β y lactamasa β son los fármacos preferidos para el tratamiento.
   (D) El diagnóstico se basa en cultivos bacterianos sistemáticos negativos de pus aspirado de ganglios linfáticos afectados.
   (E) La enfermedad lleva con rapidez a septicemia, incluidos individuos sin anomalías inmunitarias.
8. De los planteamientos siguientes sobre la angiomatosis bacilar, ¿cuál es el más acertado?
   (A) Su causa es *Bartonella bacilliformis.*
   (B) De manera típica se circunscribe a la piel.
   (C) La principal entidad patológica en el diagnóstico diferencial es el sarcoma de Kaposi.
   (D) El agente etiológico se puede cultivar durante uno a dos días de forma sistemática en agar con sangre de cordero.
   (E) Los perros son el reservorio del agente causal.
9. Un factor importante en la patogenia de la legionelosis es que
   (A) *Legionella pneumophila* destruye polimorfonucleares.
   (B) Los macrófagos alveolares fagocitan *Legionella pneumophila,* y para ello se valen de seudópodos.
   (C) *Legionella pneumophila* invade capilares pulmonares y con ello se disemina y origina enfermedad generalizada.
   (D) *Legionella pneumophila* induce a los fagosomas de macrófagos alveolares a que se fusionen con los lisosomas.
   (E) La proteína A de superficie externa (OspA, *outer–surface protein A*) de *Legionella pneumophila* es importante para la invasión de los macrófagos alveolares.
10. Las declaraciones afirmativas en cuanto a *T. whipplei* incluyen todas las siguientes, *excepto*
   (A) Su cultivo es fácil en agar chocolate después de tres días de incubación.
   (B) Es un actimiceto grampositivo.
   (C) Causa fiebre, dolor abdominal, diarrea, pérdida de peso y poliartralgias migratorias.
   (D) Se tiñe con PAS.
11. Todas las afirmaciones siguientes presentadas respecto a las infecciones por *Legionella* son correctas, *excepto*:
   (A) Hospitales que atienden personas en peligro de manifestar infecciones por *Legionella* deben saber si en sus sistemas de agua potable está dicho microorganismo.
   (B) La transmisión entre personas constituye el principal mecanismo de contagio de infección por *Legionella*.
   (C) Es posible observar a *Legionella* con tinción de Gram si se utiliza carbolfucsina como medio de contraste.
   (D) Los signos de la radiografía de tórax de una persona con neumonía por *Legionella* son indistinguibles de los que muestran los pacientes con neumonía causada por otros microorganismos patógenos.
   (E) Los fármacos de primera elección para el tratamiento de infecciones por *Legionella* son un macrólido o una quinolona.
12. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál representa mejor la participación de la proteína Mip en la patogenia de infecciones por *Legionella*?
   (A) Evita la fusión del fagosoma-lisosoma.
   (B) Actúa como un sideróforo para la captación de hierro.
   (C) Evita la fagocitosis.
   (D) Facilita la adhesión al macrófago y estimula la invasión celular.
   (E) Ninguna de las mencionadas.
13. La fiebre de Pontiac es una forma grave de neumonía causada por *Legionella pneumophila* serotipos 1 y 6.
   (A) Verdadero
   (B) Falso
14. Todas las afirmaciones siguientes sobre *Streptobacillus moniliformis* son correctas, *excepto*
   (A) Es susceptible a la penicilina.
   (B) Causa la fiebre por mordedura de rata.
   (C) Ocasiona la fiebre de Haverhill por ingestión de alimentos contaminados.
   (D) El microorganismo tiene forma de espiral.
15. El diagnóstico de enfermedad de Whipple se confirma mejor por
   (A) Estudio de un par de sueros obtenidos con ocho semanas de diferencia
   (B) Cultivo prolongado en medio para micobacterias
   (C) Estudio de amplificación de ácido nucleico realizado en el tejido
   (D) Estudio histopatológico
   (E) Ninguno de los mencionados

RESPUESTAS

1. B	5. E	9. B	13. B
2. B	6. E	10. A	14. D
3. A	7. B	11. B	15. C
4. E	8. C	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Angelakis E, Raoult D: Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44:16-25.

Edelstein PH: *Legionella*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Lin YE, Stout JE, Yu VL: Prevention of hospital-acquired legionellosis. *Curr Opin Infect Dis* 2011;24:350-356.

Maggi RG, Kempf VAJ, Chomel BB, *et al.*: *Bartonella*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Phin N, Parry-Ford F, Harrison T, *et al.*: Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *Lancet Infect Dis* 2014;14:1011-12.

Schwartzman S, Schwartzman M: Whipple's disease. *Rheum Dis Clin N Am* 2013;39:313-321.

Woo PCY, Wu AKL, Tsang CC, *et al.*: *Streptobacillus hongkongensis* sp. nov., isolated from patients with quinsy and septic arthritis, and emended descriptions of the genus *Streptobacillus* and *Streptobacillus moniliformis*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014;64: 3034-3039.

CAPÍTULO

23

Micobacterias

Las micobacterias son bacterias aerobias de contornos cilíndricos, que no forman esporas. No captan con facilidad los colorantes, pero una vez teñidas resisten la decoloración por ácido o alcohol y por esa razón se les ha llamado bacilos "acidorresistentes". *Mycobacterium tuberculosis* causa tuberculosis y es un patógeno muy importante para los seres humanos. *Mycobacterium leprae* causa la lepra. *Mycobacterium avium-intracellulare (*complejo de *M. avium*, o MAC [*M. avium* complex]) y otras micobacterias no tuberculosas (NTM, *nontuberculus mycobacteria*) suelen infectar a enfermos de sida; son patógenos oportunistas en otros individuos inmunodeficientes y a veces causan enfermedad en personas con sistemas inmunitarios sanos. Se conocen más de 200 especies de *Mycobacterium,* incluidas muchas formas saprófitas. Las micobacterias que infectan seres humanos se enlistan en el cuadro 23-1.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En los tejidos, los bacilos tuberculosos son finas estructuras rectas cilíndricas que miden cerca de 0.4 × 3 μm (figura 23-1). En medios artificiales, se les identifica por tener formas cocoides y filamentosas, cuya morfología varía con la especie. Es imposible clasificar las micobacterias en grampositivas o gramnegativas. Una vez que captan los colorantes básicos, el alcohol no las decolora, independientemente del tratamiento con yodo. Los bacilos tuberculosos verdaderos se caracterizan por su propiedad "acidorresistente", es decir, la mezcla de alcohol etílico al 95% y ácido clorhídrico al 3% (ácido-alcohol), decolora rápidamente todas las bacterias, excepto las micobacterias. Tal resistencia depende de la integridad de la cubierta cerosa. La **técnica de Ziehl-Neelsen** se emplea para la tinción e identificación de las bacterias acidorresistentes; en el capítulo 47 se explica dicho método a detalle. En extensiones de esputo o cortes de tejido se demuestra la presencia de micobacterias por la fluorescencia amarillo-naranja después de aplicar los colorantes fluorocrómicos (p. ej., auramina, rodamina). La facilidad con la que se visualizan los bacilos acidorresistentes, con los colorantes fluorocrómicos los vuelve idóneos para este tipo de muestras clínicas (figura 23-1B). La disponibilidad de microscopios con diodos emisores de luz ultrabrillante, algunos de los cuales no requieren electricidad, ha constituido un avance en la microscopia de fluorescencia en países con recursos limitados.

B. Cultivo

Los medios de cultivo primarios para micobacterias deben incluir medios no selectivos y medios selectivos. Estos últimos contienen antibióticos para evitar la proliferación de bacterias y hongos contaminantes. Existen tres preparaciones generales que pueden utilizarse para los medios selectivos o no selectivos. Los medios con agar (sólidos) son útiles para observar la morfología de las colonias, para la detección de cultivos mixtos, para la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; también proporcionan algunas indicaciones de la cantidad de microorganismos en una muestra en particular.

1. Medio de agar semisintético. Los medios de esta categoría (como Middlebrook 7H10 y 7H11) contienen sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa y glicerol; el medio 7H11 contiene también hidrolizado de caseína. La albúmina neutraliza los efectos tóxicos e inhibidores de los ácidos grasos en la muestra o el medio de cultivo. Los grandes inóculos permiten la proliferación en los medios mencionados, en el curso de semanas; dado que se necesitan tales inóculos, los medios mencionados pueden ser menos sensibles que otros para el aislamiento primario de micobacterias.

2. Medios de huevo espesado. Los medios en cuestión (p. ej., Löwenstein-Jensen) contienen sales definidas, glicerol y sustancias orgánicas complejas (p. ej., huevos frescos o yemas de huevo, harina de papa y otros ingredientes en combinaciones). Se incluye el verde de malaquita para inhibir la proliferación de otras bacterias. Los inóculos pequeños en muestras teñidas de los pacientes proliferarán en dichos medios en un lapso de tres a seis semanas.

Los medios en cuestión, con la adición de antibióticos, se utilizan como medios selectivos.

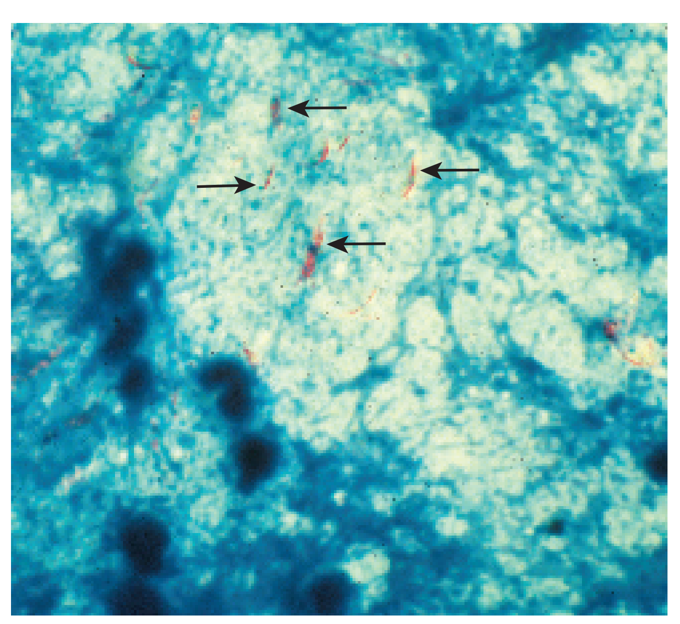
3. Caldos (como medios). Los caldos señalados (Middlebrook 7H9 y 7H12) permiten la proliferación de inóculos pequeños. Por lo común, las micobacterias proliferan en cúmulos o masas, dado el carácter hidrófobo de la superficie celular. Si se agregan ésteres hidrosolubles de ácidos grasos, humedecen la superficie y permiten la proliferación dispersa en el medio líquido. En ellos es más rápida la proliferación de los microorganismos que en medios complejos. Existen varios medios comerciales utilizados en muchos laboratorios clínicos y especializados.

apter 23_Carroll_4R.indd 309 14/04/16

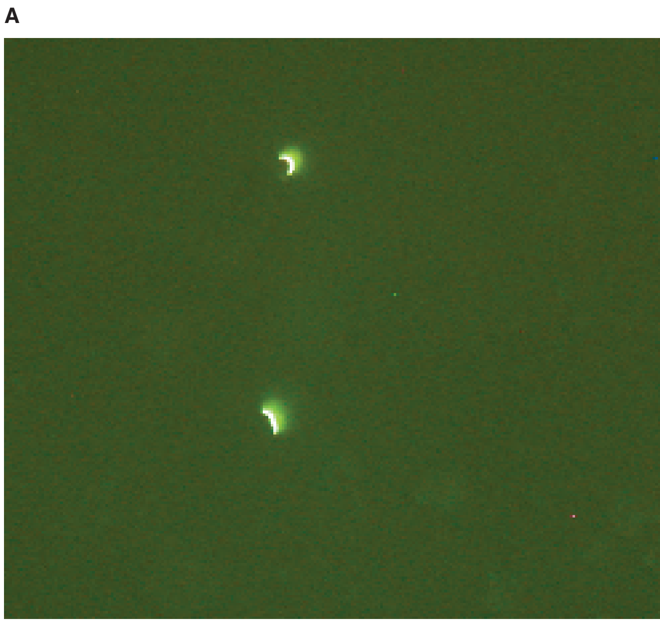
CUADRO 23-1 Micobacterias que infectan a personas

Especie	Reservorio	Manifestaciones clínicas comunes; comentarios
ESPECIE CONSIDERADA SIEMPRE COMO PATÓGENA		
Mycobacterium tuberculosis	Seres humanos	Tuberculosis pulmonar y diseminada; cada año surgen millones de casos a nivel mundial
Mycobacterium leprae	Seres humanos	Lepra
Mycobacterium bovis	Seres humanos y ganado bovino	Cuadro similar a tuberculosis; rara en Estados Unidos; *M. bovis* es muy similar a *M. tuberculosis*
ESPECIES QUE PUEDEN SER PATÓGENAS PARA LOS SERES HUMANOS		
Causas moderadamente frecuentes de enfermedad		
Complejo de *Mycobacterium avium*	Tierra, agua, pájaros, aves de corral, cerdos, ganado bovino, medio ambiente	Diseminada, pulmonar; muy común en enfermos de sida que no reciben tratamiento; ocurre en pacientes con inmunodepresión; poco común en pacientes con sistemas inmunitarios sanos
Mycobacterium kansasii	Agua, ganado bovino	Pulmones y otros sitios
Causas poco comunes o muy raras de enfermedad		
Mycobacterium africanum	Seres humanos y monos	Cultivos de material pulmonar; se asemeja al cuadro de *Mycobacterium tuberculosis;* raro
Mycobacterium genavense	Seres humanos, pájaros que sirven de mascotas	Sangre en enfermos de sida; prolifera en un medio líquido y en un medio sólido suplementado con micobactina J; prolifera en un lapso de dos a ocho semanas
Mycobacterium haemophilum	Se desconoce	Nódulos y úlceras subcutáneas predominantemente en enfermos de sida; necesita de hemoglobina o hemina; prolifera a 28 a 32 °C; raro
Mycobacterium malmoense	Se desconoce; medio ambiente	Pulmonares, similar a tuberculosis (adultos), ganglios linfáticos (niños); muchos casos informados se originaron en Suecia, pero el microorganismo puede mostrar una distribución mucho más amplia; *Mycobacterium malmoense* guarda íntima relación con *Mycobacterium avium-intracelulare*; se necesitan ocho a 12 semanas para que prolifere.
Mycobacterium marinum	Peces y agua	Nódulos y abscesos subcutáneos, úlceras de piel
Mycobacterium scrofulaceum	Tierra, agua, alimentos frescos	Linfadenitis cervical; el cuadro por lo común cura por medio de incisión, drenaje y extirpación de los ganglios afectados
Mycobacterium nonchromogenicum	Medio ambiente	Patógeno primario en el complejo de *Mycobacterium terrae.* Origina tenosinovitis de la mano
Mycobacterium simiae (nuevos miembros del complejo de *M. simiae* incluyen *M. lentiflavum, M. triplex, M. europaeum*)	Monos, agua	Pulmonares, forma diseminada en enfermos de sida; raro
Mycobacterium szulgai	Se desconoce	Pulmonares, similares a tuberculosis; raro
Mycobacterium ulcerans	Seres humanos, medio ambiente	Nódulos subcutáneos y úlceras; puede causar un cuadro grave; *M. ulcerans* guarda íntima relación con *M. marinum*; se necesita que transcurran seis a 12 semanas para que prolifere; la proliferación óptima a 33 °C sugiere un origen del medio ambiente; raro
Mycobacterium xenopi	Agua, pájaros	Pulmonares, un cuadro similar a tuberculosis en que desde antes hubo neumopatía; raro
Micobacterias de crecimiento rápido		
Mycobacterium abscessus	Tierra, agua, animales	Es la micobacteria de crecimiento rápido aislada más a menudo de infecciones pulmonares; infecciones de piel y tejidos blandos; a menudo es multirresistente
Mycobacterium chelonae	Tierra, agua, animales, vida marina	Son muy comunes las lesiones cutáneas, abscesos subcutáneos e infecciones diseminadas en personas inmunodeficientes
Mycobacterium fortuitum	Tierra, agua, animales,	Consiste en un complejo de microorganismos que se diferencian sólo por métodos moleculares. Se le ha vinculado con la furunculosis de uñas en salones de belleza; infecciones pulmonares similares a las causadas por *Mycobacterium abscessus*
Mycobacterium immunogenum	Medio ambiente	Vinculado con seudobrotes que dependen de equipo contaminado en los hospitales; las micobacterias aisladas se han vinculado con artropatías, úlceras de piel, infecciones por catéteres y algunos casos de neuropatías. Guarda relación íntima con *M. chelonae-abscessus*
Mycobacterium mucogenicum	Se desconoce	Las infecciones propias de catéteres venosos centrales constituyen las más importantes en las que interviene dicho microorganismo. Su nombre señala la imagen mucosa que tiene en el cultivo
ESPECIES SAPRÓFITAS QUE MUY RARA VEZ OCASIONAN ENFERMEDAD EN SERES HUMANOS		
Mycobacterium gordonae	Agua	Las especies saprófitas de *Mycobacterium* son causas muy raras de enfermedad en personas. La positividad en los cultivos de tales micobacterias por lo regular constituye contaminación ambiental de la muestra y no la enfermedad. Muchas de las micobacterias saprófitas proliferan mejor a temperaturas de 33 °C o menores. Se han identificado otras especies saprófitas de *Mycobacterium* que no se incluyen en este cuadro y que rarísima vez (si es que así ocurre) se producen en los cultivos de muestras de los pacientes.
Mycobacterium flavescens	Tierra, agua	
Mycobacterium fallax	Tierra, agua	
Mycobacterium gastri	Material de lavado estomacal	
Mycobacterium smegmatis	Tierra, agua	
Complejo de *Mycobacterium terrae*	Tierra, agua	

CVC, catéter venoso central.



A



B

FIGURA 23-1 **A:** *Mycobacterium tuberculosis* (*flechas*) en una muestra preparada de esputo teñida con la técnica de Ziehl-Neelsen. La micobacteria es roja y se destaca contra un fondo azul. **B:** Se utilizó el colorante fluorescente auramina O para teñir una muestra de esputo. Se destacan dos *Mycobacterium tuberculosis* fluorescentes. Amplificación original × 1 000. (Por cortesía de G. Cunningham.)

C. Características de crecimiento

Las micobacterias son aerobios estrictos y obtienen energía de la oxidación de muchos compuestos simples de carbono. La mayor tensión de CO_2 intensifica la proliferación. Las actividades bioquímicas no son características y la rapidez de proliferación es mucho menor que la de muchas bacterias. El tiempo en que se duplica el número de bacilos tuberculosos es de 18 h. Las formas saprofitas tienden a multiplicarse con mayor rapidez, proliferan satisfactoriamente a 22 a 33 °C, producen más pigmento y tienen una propiedad acidorresistente menor que las formas patógenas.

D. Reacción a agentes físicos y químicos

Las micobacterias tienden a ser más resistentes a agentes químicos que a otras bacterias, por la naturaleza hidrófoba de su superficie celular y su proliferación en cúmulos. Los colorantes (como el verde de malaquita) o los antibacterianos (como la penicilina) que tienen propiedades bacteriostáticas en otras bacterias, pueden ser incorporados en medios de laboratorio sin inhibir la proliferación de los bacilos tuberculosos. Los ácidos y los álcalis permiten la supervivencia de algunos bacilos tuberculosos expuestos y se usan para eliminar microorganismos contaminantes y para la "concentración" de muestras clínicas. Los bacilos tuberculosos son resistentes al secamiento y viven por mucho tiempo en el esputo seco.

E. Variación

Pueden surgir variaciones en el aspecto de la colonia, su pigmentación, virulencia, temperatura para proliferación óptima y otras características celulares o de crecimiento.

F. Patogenicidad de micobacterias

Se han identificado notables diferencias de la capacidad que tienen diversas micobacterias para causar lesiones en especies de hospedadores. Los seres humanos y los cobayos son muy susceptibles a la infección por *M. tuberculosis,* en tanto que las aves de corral y el ganado bovino son resistentes. *M. tuberculosis* y *M. bovis* tienen igual capacidad patógena en las personas. La vía de infección (aparato respiratorio en comparación con vías intestinales) es el elemento del que dependen las características de las lesiones. En países desarrollados, *M. bovis* se ha vuelto muy rara. Algunas micobacterias "atípicas", calificadas ahora como no tuberculosas (p. ej., *Mycobacterium kansasii*), producen una enfermedad en seres humanos idéntica a la tuberculosis; otros (p. ej., *M. fortuitum*) causan sólo lesiones superficiales o actúan como oportunistas.

Constituyentes de los bacilos tuberculosos

Los constituyentes que a continuación se mencionan están presentes más bien en la pared de los microorganismos que se describen. La pared de las micobacterias induce hiperinsensibilidad tardía y moderada resistencia a la infección y puede sustituir a la micobacteria íntegra en el medio aditivo o coadyuvante de Freund. El contenido de la micobacteria desencadena sólo reacciones de hipersensibilidad tardía en animales ya sensibilizados.

A. Lípidos

Las micobacterias cuentan con abundantes lípidos; éstos incluyen ácidos micólicos (ácidos grasos de cadena larga de 78 a 90 carbonos), ceras y fosfátidos. En la célula, los lípidos en gran medida están unidos a proteínas y polisacáridos. El dipéptido muramilo (proveniente del peptidoglucano) en complejo con ácidos micólicos puede hacer que se formen granulomas; los fosfolípidos inducen la necrosis caseosa. Los lípidos en cierta medida son los que causan la propiedad acidorresistente. Después de ser eliminados por ácido caliente, desaparece el carácter acidorresistente que depende de la integridad de la pared celular y de la presencia de algunos lípidos. La acidorresistencia

también se pierde después de aplicar ultrasonido en las micobacterias. El análisis de los lípidos por cromatografía gaseosa indica características que facilitan la clasificación de especies diferentes.

Las cepas virulentas de bacilos tuberculosos forman "cordones serpentinos" microscópicos en que los bacilos acidorresistentes están dispuestos en cadenas paralelas. La formación de cordones guarda relación con la virulencia. De los bacilos virulentos se ha extraído con éter de petróleo un "factor de cordones" (trehalosa 6,6′-dimicolato); éste inhibe la migración de leucocitos, causa granulomas crónicos y a veces actúa como un "coadyuvante" inmunológico.

B. Proteínas

Cada tipo de *MICOBACTERIAS* contiene proteínas que desencadenan la reacción tuberculínica. Las proteínas fijadas a una fracción de cera, después de inyectadas, inducen sensibilidad a la tuberculina. También estimulan la formación de diversos anticuerpos.

C. Polisacáridos

Las micobacterias contienen diversos polisacáridos, aunque no se ha dilucidado su participación en la patogenia de la enfermedad. Inducen el tipo de hipersensibilidad inmediata y pueden actuar como antígenos en reacciones con suero de personas infectadas.

Patogenia

Las micobacterias son expulsadas en gotitas que tienen menos de 25 μm de diámetro cuando una persona infectada tose, estornuda o habla. Las gotitas se evaporan y dejan microorganismos que por su pequeñez después de inhalados pueden ser depositados en los alvéolos. En el interior de ellos, el sistema inmunitario del hospedador reacciona con la liberación de citocinas y linfocinas que estimulan a monocitos y macrófagos. Las micobacterias comienzan a multiplicarse dentro de los macrófagos y algunos de ellos terminan por tener una mayor capacidad de destruir el microorganismo, en tanto que otros pueden ser destruidos por él. Las lesiones patógenas relacionadas con infección se desarrollan en el pulmón uno a dos meses después de la exposición. Pueden surgir dos tipos de lesiones, que se describirán en párrafos siguientes en el apartado de Anatomía patológica. La resistencia y la hipersensibilidad del hospedador influyen enormemente en la evolución de la enfermedad y en el tipo de lesiones que se presenten.

Anatomía patológica

La génesis y el desarrollo de lesiones y su curación o evolución dependen principalmente de: 1) el número de micobacterias en el inóculo y su proliferación ulterior, y 2) el tipo de hospedador y su respuesta inmunológica.

A. Dos lesiones principales

1. Tipo exudativo. Esta lesión consiste en una reacción inflamatoria aguda, con líquido de edema, presencia de leucocitos polimorfonucleares y más tarde de monocitos alrededor de los bacilos tuberculosos. La lesión en cuestión se identifica en particular en tejido pulmonar, en donde se asemeja al cuadro de neumonía bacteriana. Puede desaparecer por resolución de modo que el exudado en su totalidad es absorbido; puede originar necrosis masiva de tejido o transformarse en un segundo tipo de lesión (productiva). En la fase exudativa, la prueba de tuberculina se torna positiva.

2. Tipo productivo (proliferativo). Cuando está totalmente desarrollada, esta lesión, un granuloma crónico, comprende tres zonas: 1) una zona central de grandes células gigantes multinucleadas que contienen bacilos tuberculosos; 2) una zona media de células epitelioides pálidas dispuestas a menudo en forma radiada, y 3) una zona periférica de fibroblastos, linfocitos y monocitos. Más adelante, surge tejido fibroso periférico y la zona central presenta necrosis caseosa; tal lesión recibe el nombre de *tubérculo*. El tubérculo caseoso puede romperse y vaciar su contenido en un bronquio y formar una cavidad. Más adelante cura por fibrosis o calcificación.

B. Propagación de microorganismos en el hospedador

Los bacilos tuberculosos se propagan en el hospedador por extensión directa, a través de conductos linfáticos y torrente sanguíneo, y también por los bronquios y vías gastrointestinales.

En la infección primaria, los bacilos tuberculosos siempre se propagan desde el sitio inicial, por medio de vasos linfáticos hacia los ganglios linfáticos regionales. Los bacilos se distribuyen más lejos y llegan a la circulación sanguínea, que a su vez los transporta a todos los órganos (distribución miliar). La invasión al torrente sanguíneo también puede hacerse porque un tubérculo o un ganglio linfático caseificados erosionan una vena, y si dicha lesión vacía su contenido en un bronquio, es aspirado y distribuido a otras zonas de los pulmones o deglutido, y llega al estómago y los intestinos.

C. Sitios intracelulares de proliferación

Una vez que las micobacterias se establecen en los tejidos, lo hacen más bien en el interior de los monocitos, células reticuloendoteliales y células gigantes. La localización intracelular es una de las características que dificulta la quimioterapia y facilita la persistencia microbiana. En el interior de las células de animales inmunes queda fuertemente inhibida la multiplicación de los bacilos tuberculosos.

Infección primaria y reactivación Tipos de tuberculosis

Cuando el hospedador entra en contacto por primera vez con los bacilos tuberculosos, por lo común se observan las siguientes características: 1) surge una lesión exudativa aguda que se propaga de modo rápido a vasos linfáticos y ganglios linfáticos regionales. La lesión mencionada en los tejidos suele curar en muy corto plazo; 2) el ganglio linfático experimenta caseificación masiva; por lo común termina calcificado (lesión de Ghon), y 3) la prueba con tuberculina adquiere carácter positivo.

Como se describió a principios del siglo XX, la infección primaria ocurre por lo general en la niñez y afecta cualquier

parte del pulmón, pero más a menudo los campos pulmonares medios o las bases pulmonares. A menudo se observa aumento de tamaño de los ganglios linfáticos mediastínicos o hiliares.

El tipo de reactivación suele depender de bacilos tuberculosos que han sobrevivido en la lesión primaria. La tuberculosis por reactivación se caracteriza por lesiones crónicas en tejido, así como por la formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. Hay ataque mínimo de ganglios linfáticos regionales y no presenta caseificación. El tipo de reactivación casi siempre comienza en el vértice del pulmón, zona en que la presión de oxígeno (PO_2) alcanza su máximo.

Las diferencias mencionadas entre la infección primaria y la reinfección o reactivación se han atribuido a: 1) resistencia y 2) hipersensibilidad inducida por la infección primaria. No se ha dilucidado el grado en que cada uno de los componentes en cuestión participa en la respuesta modificada en el caso de la tuberculosis por reactivación.

Inmunidad e hipersensibilidad

Durante la primera infección con bacilo tuberculoso, el sujeto adquiere cierta resistencia y aumenta la capacidad de localizar los bacilos tuberculosos, retardar y limitar su proliferación, así como reducir la diseminación por vía linfática; todo ello es atribuible al desarrollo de inmunidad de tipo celular, con la capacidad evidente de los fagocitos mononucleares para limitar la proliferación de los microorganismos ingeridos e incluso para destruirlos.

En el curso de la infección primaria, el hospedador también adquiere hipersensibilidad a los bacilos tuberculosos; ello se manifiesta por el desarrollo de una reacción positiva a la tuberculina (véase adelante). El bacilo tuberculoso íntegro o la tuberculoproteína en combinación con la cera soluble en cloroformo de dicho bacilo puede inducir sensibilidad a la tuberculina, acción que no tiene la tuberculoproteína sola. La hipersensibilidad y la resistencia al parecer son factores distintos de reacciones afines mediadas por células.

Prueba de tuberculina

A. Material

La tuberculina antigua es un filtrado concentrado de caldo en que han proliferado durante seis semanas bacilos tuberculosos. Además de las tuberculoproteínas reactivas, dicho material contiene otros constituyentes de los bacilos y del medio de cultivo. El derivado proteínico purificado (PPD, *purified protein derivative*) se obtiene por fraccionamiento químico de la tuberculina antigua. El PPD se estandariza en términos de su reactividad biológica, en forma de unidades de tuberculina (TU, *tuberculin units*). Por acuerdo internacional, TU se define como la actividad contenida en un peso especificado del lote No. 49608 de PPD de Seibert, en un amortiguador específico. Ello constituye PPD-S, que es la norma de tuberculina con la cual deben compararse la potencia de todos los productos, por biocuantificación, (p. ej., por el tamaño o magnitud de la reacción en seres humanos). La tuberculina de primera potencia tiene 1 TU; la de potencia intermedia 5 TU y la de segunda potencia 250 TU. La bioequivalencia de los productos de PPD no se basa en el peso del material, sino en la actividad comparativa.

B. Dosis de tuberculina

La dosis grande de tuberculina inyectada en un hospedador hipersensible puede ocasionar graves reacciones locales y una exacerbación de la inflamación y la necrosis en los sitios principales de infección (reacciones focales); por tal razón, para las pruebas de tuberculina en estudios se utilizan 5 TU en solución de 0.1 ml; en caso de personas en quienes se sospecha hipersensibilidad extraordinaria, la prueba cutánea se comienza con 1 unidad de tuberculina. El volumen suele ser 0.1 ml, inyectado por vía intracutánea por lo general en la cara palmar del antebrazo. El preparado de PPD debe estabilizarse con polisorbato 80 para que no se adsorba en el vidrio.

C. Reacciones a la tuberculina

Una vez realizada la prueba cutánea de tuberculina, se explora la zona en busca de induración, en un lapso que no rebase las 72 h después del emplazamiento. Es indispensable que personal capacitado en la interpretación precisa de las pruebas explore el área en que se practicaron las mismas. El eritema por sí solo no debe ser interpretado como un resultado de reactividad. En Estados Unidos, los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) han establecido tres puntos de corte diferentes para calificar como positiva una prueba, después de considerar la sensibilidad y la especificidad de la misma y la prevalencia de tuberculosis en diversas poblaciones. En el caso de individuos expuestos al máximo riesgo de presentar enfermedad activa (p. ej., personas infectadas por VIH o las que han estado expuestas a otros individuos con tuberculosis activa) se considera positiva una prueba con induración de 5 mm o más; más de 10 mm se considera positiva en personas que tienen una mayor probabilidad de presentar una infección reciente. La categoría anterior incluiría a migrantes de reciente arribo, originarios de países con elevada prevalencia de la enfermedad, toxicómanos que abusan de drogas intravenosas y personal asistencial expuesto a tuberculosis. En el caso de individuos con poco riesgo de presentar tuberculosis se considera como prueba positiva la induración de 15 mm o más. En el individuo que no ha tenido contacto con micobacterias por lo común no hay reacción a PPD-S. Las pruebas positivas tienden a persistir varios días, en tanto que las reacciones débiles desaparecen a veces con mayor rapidez.

La prueba de la tuberculina adquiere positividad cuatro a seis semanas después de la infección (o de la inyección de bacilos avirulentos). Puede ser negativa en presencia de una infección tuberculosa si surge "anergia" por tuberculosis sobreaguda, sarampión, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis, sida o inmunodepresión. En ocasiones una prueba positiva se revierte con el tratamiento a base de isoniazida (INH) en un convertidor reciente. Después de la vacunación con bacilo de Calmette-Guérin (BCG, bacillus Calmette-Guérin), hay conversión a una prueba positiva, pero esto puede durar sólo tres a siete años. Solamente la eliminación de bacilos viables de tuberculosis permite la negativización (reversión) de la prueba de la tuberculina. No obstante, individuos que años atrás fueron PPD-positivos y están sanos, quizá no muestren una prueba cutánea de tuberculina positiva. Al repetir la prueba en ellos dos semanas más tarde, la prueba cutánea con PPD, "reforzada" por la inyección reciente del antígeno, generará de nuevo una induración de tamaño positivo.

La positividad de la reacción tuberculínica indica que la persona mostró infección en el pasado; no denota que exista enfermedad activa ni inmunidad al trastorno. Las personas con positividad a la tuberculina están en peligro de presentar la enfermedad, por reactivación de la infección primaria, en tanto que aquellas con negatividad a la tuberculina, que nunca han estado infectadas, no presentan dicho riesgo, aunque se infecten de una fuente externa.

D. Análisis con liberación de interferón γ para detectar tuberculosis

A veces los resultados de la prueba cutánea de tuberculina son ambivalentes, particularmente en personas que han sido vacunadas con BCG o que viven en áreas en que hay gran prevalencia de micobacterias NTM en el entorno. En un intento por mejorar la precisión diagnóstica, se han creado a nivel comercial análisis con liberación de interferón-γ (IGRA, *IFN–γ release assays*) en sangre. Estos análisis se basan en respuestas inmunitarias del hospedador específicas contra antígenos de *M. tuberculosis* ESAT-6 (blanco antigénico secretor temprano-6), CFP-10 (proteína de filtrado de cultivo-10) y TB7.7, que está ausente en la mayor parte de NTM y BCG. La prueba detecta interferón-γ, que es liberado por los linfocitos T CD4 sensibilizados en respuesta a estos antígenos. A la fecha, en Estados Unidos se cuenta con dos análisis comerciales. Uno de ellos es un enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) que detecta interferón-γ en sangre. El otro es un análisis de inmunotransferencia (*inmunospot*) tipo ELISA que utiliza células mononucleares purificadas de sangre periférica. Los resultados de los dos estudios son señalados como positivos, negativos o indeterminados; están aún en fase de valoración. Son susceptibles a las variaciones biológicas de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, estudios múltiples han indicado que las cuantificaciones mencionadas son similares a la prueba cutánea de tuberculina para valorar una infección latente, particularmente en personas que han recibido BCG. Sin embargo, es mejor no utilizarlos en hospedadores con inmunodeficiencia grave o en niños menores de cinco años de edad. En Estados Unidos, los CDC han publicado guías actualizadas que resumen las recomendaciones sobre el uso de IGRA (véase Mazurek *et al*., 2010)

En el caso de personas en quienes se observó transformación reciente de un resultado negativo a otro positivo en la prueba cutánea o IGRA y en otras que han tenido positividad a la prueba y han cumplido con algunos criterios de mayor riesgo de enfermedad activa si están infectadas, por lo regular se emprende la profilaxia con INH al día durante nueve meses. En fecha reciente, los CDC publicaron nuevas recomendaciones para tratar la tuberculosis latente, con acortamiento notable de tratamiento, a 12 semanas. El nuevo régimen comprende la administración de INH y rifapentina una vez por semana, en el llamado tratamiento bajo observación directa. Se ha demostrado que el nuevo tratamiento equivale al anterior, según datos de tres estudios clínicos con asignación al azar.

Manifestaciones clínicas

Debido a que el bacilo de la tuberculosis puede afectar cualquier órgano o sistema, sus manifestaciones clínicas son proteiformes. Signos de enfermedad tuberculosa pueden ser fatiga, debilidad, pérdida de peso, fiebre y sudores nocturnos. La afección de los pulmones origina tos crónica y hemoptisis, que surgen por lo común en el caso de lesiones avanzadas. La meningitis o la afección de las vías urinarias surge a veces sin que se manifiesten otros signos de tuberculosis. La diseminación por la circulación sanguínea origina tuberculosis miliar, con lesiones en muchos órganos y una elevada cifra de mortalidad.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Una prueba cutánea de tuberculina positiva no denota la presencia de enfermedad activa por bacilos tuberculosos; la corroboración se obtiene por el aislamiento de ellos.

A. Muestras

Las muestras comprenden esputo recién expectorado, solución de lavado gástrico, orina, líquidos pleural, cefalorraquídeo o sinovial; material de biopsia, sangre u otros productos sospechosos.

B. Descontaminación y concentración de las muestras

Las muestras de esputo y las obtenidas de otros sitios no estériles deben ser licuadas con *N*-acetil-L-cisteína, descontaminadas con hidróxido de sodio (NaOH) (destruye muchas de las demás bacterias y hongos), neutralizadas con amortiguadores y concentradas por centrifugación. El material obtenido de este procedimiento puede utilizarse para tinción en busca de bacilos acidorresistentes y para cultivo. El material de sitios estériles como el líquido cefalorraquídeo no necesita someterse a descontaminación, y puede ser centrifugado, estudiado y cultivado de manera directa.

C. Frotis

Esputo, exudado y otros materiales se estudian por medio de tinción en busca de bacilos acidorresistentes. Por lo regular no se recomienda teñir el material de lavado gástrico y la orina, porque pueden estar presentes micobacterias saprofitas y con ello generar un resultado positivo. La microscopia por fluorescencia con auramina-rodamina como colorantes es más sensible que las tinciones tradicionales para acidorresistentes como la de Ziehl-Neelsen y son las técnicas preferidas para teñir el material clínico. Si en una muestra adecuada se identifican microorganismos acidorresistentes, constituye prueba presuntiva de una infección por micobacterias.

D. Cultivo, identificación y pruebas de susceptibilidad

Las muestras preparadas obtenidas de sitios no estériles y las centrifugadas provenientes de sitios estériles pueden ser cultivadas de manera directa en medios selectivos y no selectivos (véase antes). El cultivo selectivo en caldo suele ser el más sensible y genera resultados con gran rapidez. Los medios de agar selectivos (como el de biplaca de Löwenstein-Jensen o de Middlebrook 7H10/7H11 con antibióticos) deben inocularse en paralelo con medios de caldo. La incubación se hará a 35 a

CUADRO 23-2 Clasificación tradicional de Runyon de micobacterias

Clasificación	Organismo
Complejo tuberculoso	*Mycobacterium tuberculosis* *Mycobacterium africanum* *Mycobacterium bovis* Otros
Fotocromógenos	*Mycobacterium asiaticum* *Mycobacterium kansasii* *Mycobacterium marinum* *Mycobacterium simiae*
Escotocromógenos	*Mycobacterium flavescens* *Mycobacterium gordonae* *Mycobacterium scrofulaceum* *Mycobacterium szulgai*
No cromógenos	Complejo de *Mycobacterium avium* *Mycobacterium celatum* *Mycobacterium haemophilum* *Mycobacterium gastri* *Mycobacterium genavense* *Mycobacterium malmoense* *Mycobacterium nonchromogenicum* *Mycobacterium shimoidei* *Mycobacterium terrae* *Mycobacterium trivale* *Mycobacterium ulcerans* *Mycobacterium xenopi*
Crecimiento rápido	*Mycobacterium abscessus* Grupo *de Mycobacterium fortuitum* Grupo *de Mycobacterium chelonae* *Mycobacterium immunogenum* *Mycobacterium mucogenicum* *Mycobacterium phlei* *Mycobacterium smegmatis* *Mycobacterium vaccae*

37 °C en CO_2 al 5 a 10% incluso durante ocho semanas. Si los cultivos son negativos, después de ser positiva la tinción para acidorresistentes o si se sospecha la presencia de NTM de proliferación lenta (véase adelante), habrá que incubar un conjunto de medios inoculados, a menor temperatura (p. ej., 24 a 33 °C) y los dos conjuntos se incubarán durante 12 semanas.

Es importante agregar un anticoagulante a la sangre para cultivo de micobacterias (por lo común el complejo MAC); se le preparará por alguno de los tres métodos siguientes: 1) un sistema de centrifugación y lisis disponible comercialmente o 2) inoculación en caldo comercial, preparado específicamente para cultivo de sangre. Desde el punto de vista médico es importante caracterizar y separar el complejo *M. tuberculosis* de las demás especies de micobacterias. Es necesario identificar la especie de micobacteria aislada. Los métodos convencionales para reconocer las micobacterias incluyen observación de la rapidez de proliferación, morfología de colonias, pigmentación y perfiles bioquímicos. Con los métodos convencionales suele ser necesario el transcurso de seis a ocho semanas para la identificación, y pronto se tornarán sólo de interés histórico, porque no son adecuados para identificar el número cada vez más amplio de especies clínicamente importantes. Muchos de los laboratorios ya no confían ni practican estos métodos bioquímicos. La rapidez de proliferación permite diferenciar entre microorganismos de crecimiento rápido (siete días o menos), de otras micobacterias (cuadro 23-2). Los **fotocromógenos** producen pigmento en la luz, pero no en la oscuridad; los **escotocromógenos** generan pigmento cuando proliferan en la oscuridad, y los **no cromógenos** (no fotocromógenos) no tienen pigmento y las colonias tienen un color claro o de piel de ante. Se cuenta con métodos moleculares para el estudio de cuatro especies (véase adelante); con ello los resultados se obtienen con mayor rapidez que con los métodos comunes. Pueden utilizarse en micobacterias obtenidas al proliferar en medios sólidos o en caldos de cultivo. En técnicas de hibridación se utilizan sondas de DNA que son específicas para las secuencias de rRNA del microorganismo por identificar. Cada micobacteria tiene unas 10 000 copias de rRNA y, de ese modo, se cuenta con un sistema natural de amplificación que mejora la detección. Los híbridos bicatenarios se separan de los monocatenarios no híbridos. Las sondas de DNA se unen a sustancias químicas que se activan en los híbridos, detectadas por quimioluminiscencia. Se utilizan sondas para el complejo de *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis, M. bovis, Mycobacterium africanum, Mycobacterium caprae, Mycobacterium microti, Mycobacterium canetti* y *Micobacterium pinnipedii*), complejo de MAC (*M. avium, M. intracellulare* y micobacterias muy similares), *M. kansasii* y *Mycobacterium gordonae.* El uso de las sondas ha abreviado el lapso de identificaciones de micobacterias químicamente infecciosas, de varias semanas incluso a un día.

En Estados Unidos, los cuatro grupos (complejo *M. tuberculosis*, MAC, *M. kansasii* y *M. gordonae*) constituyen 95% o más de las cepas clínicas aisladas de micobacterias.

En el caso de especies que no pueden ser identificadas por medio de sondas de DNA, muchos laboratorios cuentan con técnicas moleculares que realizan la secuenciación del gen de rRNA 16S para la identificación rápida de especies que son negativas con las sondas, o bien envían los microorganismos a laboratorios especializados que realizan métodos de secuenciación.

Para definir la especie de micobacterias se ha aplicado la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, *high-performance liquid chromatography*). Dicho método se basa en la creación de perfiles de ácidos micólicos, que varían de una especie a otra. En laboratorios especializados se practica HPLC para definir la especie de las micobacterias.

La espectrometría de masas de tiempo de vuelo con ionización desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) no ha sido autorizada por la FDA para la identificación de microorganismos del género *Mycobacterium* recuperados en cultivo, aunque se han realizado progresos. Se espera que este método esté disponible en un futuro cercano. Las pruebas de susceptibilidad de micobacterias son un método auxiliar importante en la selección de fármacos para un tratamiento eficaz. Pueden utilizarse técnicas en medios de cultivo en caldo para realizar pruebas de susceptibilidad a fármacos de primera línea. Las técnicas convencionales en agar, que son más arduas y más complejas, se realizan en laboratorios especializados; pueden realizarse pruebas para fármacos de primera y segunda líneas con este método. Una modificación en los medios de cultivo líquidos involucra la inoculación de micobacterias en placas con múltiples cavidades con y sin la adición de antibióticos (análisis MODS, *Microscopic Observation Drug*

Susceptibility) y el examen en busca de filamentos que es una característica del complejo de *M. tuberculosis*. Este método se utiliza en gran medida en Estados Unidos.

E. Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT)

Los NAAT se encuentran disponibles para la detección rápida y directa de *M. tuberculosis* en muestras clínicas. Un avance sobre las pruebas de PCR desarrolladas en el laboratorio y sobre los análisis comerciales autorizados por la FDA es un método de PCR de tiempo real que identifica complejos de Mtb y también detecta genes que codifican resistencia a rifampicina. Una de las primeras publicaciones de este método (véase la bibliografía de Boehme) indicó sensibilidad para muestras respiratorias positivas en el frotis de 98.2% y para muestras negativas en el frotis de 72.5%. La especificidad general fue de 99.2%. En términos de detección de resistencia a rifampicina, el análisis detectó mutaciones comunes, pero las discrepancias entre las pruebas de fenotipo y de genotipo aún obstaculizan la fiabilidad completa de este componente de la prueba. El análisis no se encuentra disponible en Estados Unidos, pero sí lo está en otros países.

La identificación de cepas específicas de *M. tuberculosis* puede ser importante para propósitos clínicos y epidemiológicos; esto facilita el rastreo de la transmisión, el análisis de brotes epidémicos de tuberculosis y la demostración de reactivación en comparación con reinfección en un paciente individual. La identificación genética del DNA se practica por medio de un protocolo estandarizado basado en el polimorfismo de restricción de la longitud de fragmentos. En el cromosoma de muchas cepas de *M. tuberculosis* están presentes muchas copias de la secuencia de inserción *6110* (IS*6110*), y están situadas en posiciones variables. Se generan fragmentos de DNA por la digestión de endonucleasa restrictiva y son separadas por electroforesis. Se utiliza una sonda contra IS*6110* para conocer los genotipos. Otros métodos útiles para la identificación detallada de una cepa incluyen la espoligotipificación, técnica basada en PCR, que se ocupa del análisis del *locus* de repetición directa de *M. tuberculosis* y del número de repeticiones en tándem intercaladas con variabilidad de unidades de micobacterias (MIRU-VNTR, *mycobacterial interspersed repetitive units-variable number of tandem repeats*); este último método poco a poco ha sustituido a la tipificación de IS6110. En Estados Unidos, la genotipificación se realiza en los CDC en algunos laboratorios del departamento de salud del estado y en laboratorios de investigación.

Tratamiento

El tratamiento primario de infecciones por micobacterias es la quimioterapia específica. Los fármacos usados para tal fin se señalan en el capítulo 28. En el capítulo 48 se describen dos casos de tuberculosis.

Se sabe que uno de cada 10^6 y uno de cada 10^8 bacilos de tuberculosis son mutantes espontáneos resistentes a la acción de antifímicos de primera línea. Si se utilizan los fármacos solos, con gran rapidez surgen y proliferan los bacilos resistentes. Por esa razón, con los regímenes en combinación de fármacos se obtienen índices de curación mayores a 95 por ciento.

Los dos fármacos principales utilizados para combatir la tuberculosis (antifímicos) son la **isoniazida (INH)** y la **rifampicina (RMP)**. Los otros son **pirazinamida (PZA)** y **etambutol (EMB)**. Los fármacos de segunda elección son más tóxicos, menos eficaces o tienen ambas características, y se recurre a ellos sólo en circunstancias extremas (ineficacia terapéutica y resistencia a múltiples fármacos). En esta categoría están canamicina, capreomicina, etionamida, cicloserina, ofloxacina y ciprofloxacina.

En Estados Unidos se recomienda un régimen de cuatro medicamentos que incluye INH, RMP, PZA y EMB para personas que muestran riesgo leve a moderado de infectarse con bacilos tuberculosos farmacorresistentes. Los factores de riesgo incluyen migración reciente de algún país de América Latina o de Asia; personas con infecciones por VIH o que están en peligro de contraerlas y viven en un área en que hay una prevalencia pequeña de bacilos tuberculosos resistentes a múltiples fármacos, y sujetos que han recibido un tratamiento que no incluyó RMP. La administración de cuatro fármacos se continúa durante dos meses. Si la cepa es susceptible a INH y RMP, se podría interrumpir el uso de PZA y de EMB, y continuar el resto del tratamiento a base de INH y RMP hasta completar seis meses. En individuos con la enfermedad cavitaria o en aquellos en quienes los resultados del cultivo de esputo siguen siendo positivos después de dos meses de tratamiento, habrá que agregar tres meses de tratamiento (duración total de nueve meses) para evitar recidivas. En sujetos que no cumplen indicaciones médicas es importante el tratamiento bajo observación directa.

La resistencia de *M. tuberculosis* a fármacos es un problema mundial y en algunos casos se han definido los mecanismos que explican dicho fenómeno, aunque no en todas las cepas resistentes. La resistencia a la INH se ha vinculado con deleciones o mutaciones en el gen de catalasa-peroxidasa (*katG*); los microorganismos de ese tipo se tornan catalasa-negativos o tienen una menor actividad de dicha enzima. La resistencia al INH también se ha vinculado con alteraciones en el gen *inhA*, que codifica una enzima importante en la síntesis del ácido micólico. La resistencia a la estreptomicina se ha relacionado con mutaciones en los genes *rpsL* y *rrs,* que codifican la proteína S12 ribosómica y el rRNA 16S, de manera respectiva. En el caso de la rifampicina, dicha resistencia se ha vinculado con alteraciones en la subunidad b de RNA polimerasa , que es el gen *rpoB*. Las mutaciones en *gyrA*, gen de la girasa de DNA, se han vinculado con resistencia a las fluoroquinolonas. Al escoger el tratamiento, se debe tomar en consideración la posibilidad de que exista resistencia al fármaco en el sujeto con *M. tuberculosis* aislada.

M. tuberculosis resistente a múltiples fármacos (INH y RMP), constituye un problema grave en el tratamiento y control de la tuberculosis. Las cepas mencionadas prevalecen en algunas áreas geográficas y poblaciones (p. ej., hospitales y cárceles). Se han identificado innumerables brotes de tuberculosis causados por cepas resistentes a múltiples fármacos; éstos asumen importancia particular en personas con infecciones por VIH en países con recursos escasos. Es importante tratar a los individuos con infecciones por microorganismos resistentes a múltiples fármacos o que están en grave riesgo de padecerlas, incluida la exposición a otra persona con una infección de tal índole, de acuerdo con los resultados de pruebas de suscep-

tibilidad de la cepa infectante; si no se cuenta con dichos resultados habrá que escoger fármacos acordes a las características habidas de susceptibilidad en la comunidad, que se modificarán cuando se cuente con los resultados en cuestión. El tratamiento debe incluir un mínimo de tres fármacos o de preferencia más de ese número, a los cuales las micobacterias hayan demostrado susceptibilidad.

Se han identificado a nivel global cepas ampliamente resistentes a fármacos (XDR, *extensively drug resistant*); la OMS la ha definido como cepas de *M. tuberculosis* que son resistentes a la INH y la RMP, a cualquier fluoroquinolona y cuando menos a uno de tres fármacos inyectables de segunda línea como amicacina, capreomicina o canamicina. En países con recursos limitados se ha subestimado la prevalencia verdadera de tuberculosis por XDR, porque no se cuenta con métodos diagnósticos y de susceptibilidad. Entre los factores que han contribuido a la epidemia global se incluyen el tratamiento antifímico ineficaz, la carencia de métodos diagnósticos apropiados y, de mayor importancia, las deficientes prácticas de erradicación y control de la infección. Los individuos infectados por tuberculosis XDR tienen un pronóstico clínico malo y existe la posibilidad de que 64% de ellos fallezcan durante el tratamiento, en comparación con personas infectadas con cepas susceptibles. En 2006, el *Global Task Force on* XDR-TB junto con la OMS planteó recomendaciones integrales y de aspectos diferentes para enfrentar la epidemia de XDR-TB (disponible en http://www.who.int/tb/features_archive/global_taskforce_report/en/).

Epidemiología

La fuente más frecuente de infección la constituye la persona que excreta gran número de bacilos tuberculosos, en particular de las vías respiratorias. El contacto cercano (dentro del grupo familiar) y la exposición masiva (en caso del personal médico) vuelven muy factible la transmisión por gotitas secas.

La susceptibilidad a la tuberculosis está en función del riesgo de contagiarse de la infección y de que surja enfermedad clínica una vez ocurrida ésta. En la persona tuberculinonegativa, el riesgo de contagiarse de bacilos tuberculosos depende de la exposición a fuentes de bacilos infecciosos, en particular pacientes que tienen los bacilos en el esputo (positivos); dicho riesgo es proporcional a la cifra de infección activa en la población, el hacinamiento, desventajas socioeconómicas y la inadecuada atención médica.

El desarrollo de la enfermedad clínica después de la infección puede tener un componente genético (ello se ha comprobado en animales y los datos sugieren que en los seres humanos hay una mayor incidencia de la enfermedad en personas con el antígeno de histocompatibilidad HLA-Bw15). En tal situación influyen factores como la edad (el riesgo alto se observa en la lactancia y en la senectud), la desnutrición y el estado inmunológico, enfermedades coexistentes (como silicosis o diabetes) y otros factores de resistencia del hospedador individual.

La infección se produce a edades más tempranas en poblaciones urbanas en comparación con las rurales; la infección surge sólo en una proporción pequeña de individuos infectados. En Estados Unidos en la actualidad, la enfermedad activa posee algunas características epidemiológicas en que algunas personas están expuestas a un mayor riesgo, incluidas las minorías predominantemente estadounidenses de raza negra y personas de origen latino; migrantes de países con elevada endemicidad; personas infectadas por VIH, individuos en situación de calle y personas muy jóvenes o de edad avanzada. La incidencia de tuberculosis es especialmente grande en minorías con infecciones por VIH. La infección primaria puede surgir en cualquier individuo expuesto a un agente infeccioso. Los pacientes que han tenido tuberculosis pueden infectarse por segunda vez de fuentes exógenas. La tuberculosis por reactivación endógena se observa más a menudo en individuos con inmunodepresión por sida, adultos de edad avanzada malnutridos o alcohólicos indigentes.

Prevención y control

1. El tratamiento expedito y eficaz de individuos con tuberculosis activa y la vigilancia cuidadosa de sus contactos por medio de pruebas de tuberculina, radiografías y terapias apropiadas son los elementos fundamentales para la erradicación de la tuberculosis, en lo que respecta a la salud pública.
2. La farmacoterapia de personas tuberculinopositivas asintomáticas en los grupos de edad más predispuestos a presentar complicaciones (como los niños) y en personas tuberculinopositivas que deben recibir fármacos inmunosupresores, disminuye la reactivación de la infección.
3. Factores inespecíficos pueden aminorar la resistencia del hospedador y facilitar la conversión de una infección asintomática, en un cuadro clínico; estos factores incluyen inanición, gastrectomía y supresión de la inmunidad de tipo celular por fármacos (p. ej., corticosteroides) o infecciones. La infección por VIH constituye un grave factor de riesgo de tuberculosis.
4. Algunas vacunas con bacilos avirulentos vivos, en particular el de BCG (un microorganismo bovino atenuado) se han usado para inducir algún grado de resistencia en personas muy expuestas a las infecciones. La vacunación con dichos microorganismos sustituye a la infección primaria con bacilos virulentos de tuberculosis, sin el peligro inherente de esta última situación. Las vacunas disponibles no son adecuadas respecto a muchas normas técnicas y biológicas. Sin embargo, BCG se aplica a niños en muchos países. Las pruebas estadísticas señalan que después de la vacunación mejora la resistencia durante un lapso limitado.
5. La erradicación de la tuberculosis en ganado bovino y la pasteurización de leche han disminuido el número de infecciones por *M. bovis*.

Verificación de conceptos

- Las micobacterias son microorganismos aerobios con forma bacilar y positividad acidorresistente, por la naturaleza compleja de sus paredes celulares que incluyen ácidos micólicos.
- Las micobacterias proliferan con mayor lentitud que otras bacterias. Se utilizan medios no selectivos y también selectivos en forma sólida o líquida para identificar a los microorganismos en material clínico.

- Se conocen más de 200 especies de micobacterias, pero el complejo de *M. tuberculosis* de crecimiento lento es el de mayor importancia para los seres humanos y la salud pública.
- El signo característico de las infecciones por *M. tuberculosis* son los granulomas; éstos son estructuras concéntricas que comprenden una zona necrótica central (necrosis caseosa) rodeada por una zona de células gigantes multinucleadas, monocitos e histiocitos, y un borde externo circular de fibrosis.
- Los seres humanos se contagian de tuberculosis por inhalación de gotitas infectadas que expulsa el enfermo.
- Se utiliza la prueba cutánea de tuberculina o IGRA para la detección sistemática de la infección latente de tuberculosis.
- Para el diagnóstico de tuberculosis se necesita el estudio de frotis y cultivo en busca de bacterias acidorresistentes; las técnicas de amplificación de ácido nucleico, si se realizan en muestras de frotis positivos, pueden ser muy útiles.
- El elemento básico del tratamiento es un régimen de cuatro fármacos inicialmente, que incluyen INH, RMP, PZA y EMB, seguido de cuatro meses a base de INH e RMP. También se cuenta con otros regímenes aceptables. La tuberculosis resistente a múltiples fármacos y XDR se ha vuelto un problema muy grave a nivel global.

OTRAS MICOBACTERIAS

Además de los bacilos de la tuberculosis (como *M. tuberculosis*, *M. bovis*), en los últimos decenios se han identificado por cultivo otras micobacterias con grados diversos de patogenicidad. Tales microorganismos "atípicos" se agruparon en un inicio de acuerdo a la rapidez de proliferación en diversas temperaturas y la producción de pigmentos (véase antes). En la actualidad varios han sido identificados por medio de sondas de DNA o técnicas de secuenciación de DNA. Muchos se presentan en el entorno, no se transmiten con facilidad entre personas y constituyen patógenos oportunistas (cuadro 23-1).

Especies o complejos que son causa significativa de la enfermedad se describen a continuación.

Complejo de *Mycobacterium avium*

El complejo en cuestión recibe a menudo el nombre de MAC (*Mycobacterium avium* complex) o MAI (*M. avium intracellulare*). Los microorganismos en cuestión proliferan de manera óptima a 41 °C y generan colonias no pigmentadas, blandas y lisas. Se desarrollan en cualquier sitio del entorno y se han cultivado del agua, tierra, alimentos y animales, incluidos pájaros.

Los componentes del complejo MAC pocas veces causan enfermedad en personas inmunodeprimidas. Sin embargo en Estados Unidos la infección por MAC diseminada constituye una de las más comunes por oportunistas de origen bacteriano en enfermos de sida. Aumenta sobremanera el peligro de que se desarrolle infección por MAC diseminada en individuos infectados por VIH cuando el número de sus linfocitos CD4-positivos disminuye a menos de 100/μl. (Véase el caso 17 en el capítulo 48.) Los factores para que surja infección por VIH como género, raza, grupo étnico y riesgo individual no influyen en la génesis de la infección por MAC diseminada, pero el riesgo se agrava si la persona tuvo una infección por *Pneumocystis jirovecii*, anemia grave e interrupción de la terapia antirretroviral.

En los primeros quince años de la epidemia de sida, en promedio 25% y quizá 50% de sujetos infectados por VIH terminaron por mostrar bacteriemia por MAC e infección diseminada durante el curso de sida. Más adelante, el tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART, *highly active antiretroviral therapy*) y de la profilaxia con azitromicina o claritromicina disminuyó en gran medida la incidencia de infección por MAC diseminada en enfermos de sida.

Otras personas en riesgo incluyen las que tienen fibrosis quística y proteinosis alveolar pulmonar. En mujeres de mediana edad o en edad avanzada se ha descrito la enfermedad MAC pulmonar, en ausencia de una neumopatía crónica, situación conocida como síndrome de "Lady Windermere". Esta forma de la enfermedad es indolente, y con el paso del tiempo se caracteriza por nódulos en los lóbulos medios y la língula, que evoluciona hasta la formación de cavidades. La linfadenitis cervical es la presentación más común en niños pequeños (menores de cinco años de edad). La principal manifestación es la adenopatía unilateral, de consistencia firme; por lo general no hay fiebre.

La exposición ambiental a veces culmina en la colonización de vías respiratorias o gastrointestinales por MAC. Después de invasión de tejidos se desarrolla bacteriemia transitoria. Surge bacteriemia persistente e infiltración extensa de tejidos, lo cual origina disfunción de órganos; cualquier órgano y sistema puede ser atacado. En los pulmones son frecuentes nódulos, infiltrados difusos, cavidades y lesiones endobronquiales. Otras manifestaciones comprenden pericarditis, abscesos en tejidos blandos, lesiones cutáneas, ataque de ganglios linfáticos, infección de huesos y lesiones del sistema nervioso central. El cuadro inicial suele incluir síntomas inespecíficos como fiebre, sudores nocturnos, dolor abdominal, diarrea y pérdida de peso. El diagnóstico se hace al cultivar microorganismos MAC de la sangre o de tejidos.

En forma sistemática, los microorganismos MAC son resistentes a los antituberculosos de primera línea. Uno de los tratamientos iniciales preferidos es el que incluye claritromicina o azitromicina, además de etambutol (EMB). Otros fármacos que a veces son útiles son rifabutina, clofazimina y fluoroquinolonas. La amicacina y estreptomicina tienen actividad, pero son menos deseables por su toxicidad. A menudo se utilizan en combinación varios fármacos y el tratamiento debe continuar toda la vida. La terapia disminuye el número de microorganismos MAC en la sangre y mejora los síntomas clínicos.

Mycobacterium kansasii

Se trata de un fotocromógeno que necesita medios complejos para proliferar a 37 °C. Puede producir ataque pulmonar y sistémico idéntico al de la tuberculosis, en especial en individuos con respuestas inmunitarias deficientes. Es sensible a la rifampicina y se le trata con una combinación de ella, etambutol e isoniazida, con respuesta clínica satisfactoria. No se ha precisado el origen de la infección y la transmisibilidad es pequeña o inexistente.

Mycobacterium scrofulaceum

Éste es un escotocromógeno que se presenta de manera ocasional en el agua y como saprófito en adultos con alguna neumopatía crónica. Causa linfadenitis cervical crónica en niños y, en raras ocasiones, otras enfermedades granulomatosas. Con la extirpación quirúrgica de los ganglios cervicales infectados se logra a veces la curación, y es frecuente que la micobacteria mencionada sea resistente a los antifímicos. (*Mycobacterium szulgai* y *Mycobacterium xenopi* son similares.)

Mycobacterium marinum y *Mycobacterium ulcerans*

Los dos microorganismos se producen en el agua, proliferan mejor a bajas temperaturas (31 °C), pueden infectar peces y producen lesiones superficiales de la piel (úlceras, "granulomas de piscinas") en personas. A veces son eficaces la extirpación quirúrgica, las tetraciclinas, la rifampicina y el etambutol.

Complejo de *Mycobacterium fortuitum*

Los componentes del complejo mencionado son saprófitos presentes en la tierra y el agua, que proliferan con rapidez (tres a seis días) en cultivo, y no forman pigmentos. En raras ocasiones producen enfermedad superficial y sistémica en seres humanos. Los microorganismos suelen ser resistentes a los antimicobacterianos pero pueden reaccionar a amicacina, doxiciclina, cefoxitina, eritromicina o rifampicina.

Mycobacterium chelonae-abscessus

Los componentes de esta cepa, que crecen rápido, deben diferenciarse, porque los tipos y la gravedad de la enfermedad son diferentes y porque son más fáciles las medidas terapéuticas contra ellos, ya que son más susceptibles a los antibióticos. Las dos especies son capaces de originar infecciones de piel, tejidos blandos y huesos después de traumatismo o intervenciones quirúrgicas, infecciones que se diseminan en los sujetos inmunodeficientes. En Estados Unidos, *Mycobacterium abscessus* suele identificarse en individuos con enfermedades de vías respiratorias, particularmente en regiones del sureste de ese país. Las personas infectadas más a menudo son mujeres no fumadoras, caucásicas y de edad avanzada. Los individuos con fibrosis quística también están expuestos a dicho peligro y pueden morir por una forma de la enfermedad, de evolución rápida y fulminante. *M. chelonae* de forma típica es susceptible a la tobramicina, claritromicina, linezolida e imipenem. Por lo regular, la claritromicina, amikacina y cefoxitina se utilizan para el tratamiento de infección por *M. abscessus*, aunque un problema grave con dicho microorganismo es su farmacorresistencia.

Otras especies de *Mycobacterium*

El gran riesgo de infección por micobacterias en sujetos con sida ha intensificado la percepción y conciencia de las infecciones por micobacterias, en términos generales. Se han identificado más a menudo especies que habían sido consideradas como curiosidades muy poco comunes (cuadro 23-1). La infección por *Mycobacterium malmoense* se ha informado más bien en el norte de Europa; origina una enfermedad similar a la tuberculosis pulmonar en adultos y linfadenitis en niños. *Mycobacterium haemophilum* y *Mycobacterium genavense* causan enfermedad en sujetos con sida. No se conoce en detalle la importancia de las dos especies mencionadas.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

Hansen describió la micobacteria en cuestión en 1873 (nueve años antes de que Koch descubriera el bacilo de la tuberculosis); no se ha podido cultivar en medios bacteriológicos inertes. Causa la lepra. A nivel global, la mayor parte de los casos ocurren en Brasil y en el subcontinente de India.

En la lepra lepromatosa se identifican con regularidad en el raspado de la piel o de las mucosas (en particular en el tabique nasal) los típicos bacilos acidorresistentes, únicos, en conjuntos paralelos o en masas globulosas. Por lo regular, los bacilos están dentro de las células del endotelio de vasos sanguíneos o dentro de células mononucleares. Cuando se inoculan bacilos de lepra humana (raspado de tejido fundamental de la nariz) en los cojincillos de la pata de los ratones, surgen lesiones granulomatosas locales con multiplicación limitada de bacilos. Los armadillos inoculados terminan por mostrar lepra lepromatosa extensa; en Texas y México se ha observado que tales animales muestran una infección natural de la enfermedad. *M. leprae* de armadillos o de tejido humano contiene como sustancia peculiar *o*-difenoloxidasa, tal vez una enzima característica de los bacilos de tal enfermedad.

Manifestaciones clínicas

La lepra comienza en forma insidiosa y las lesiones se desarrollan en las zonas más frías del organismo, incluyendo la piel, nervios superficiales, nariz, faringe, laringe, ojos y testículos. Se manifiestan en la forma de máculas pálidas sin sensibilidad (anestésicas) de 1 a 10 cm de diámetro; por nódulos infiltrados, difusos o eritematosos perfectamente definidos de 1 a 5 cm de diámetro o por infiltración difusa de la piel. Las alteraciones neurológicas se manifiestan por infiltración y engrosamiento de nervios; en consecuencia surgen anestesia, neuritis, parestesias, úlceras tróficas, resorción de hueso y acortamiento de dedos. La desfiguración por la infiltración cutánea y el ataque de nervios en casos no tratados puede ser extrema.

La enfermedad se divide en dos grandes tipos, la lepra lepromatosa y la tuberculoide, con algunas etapas intermedias (véase el sistema de clasificación de Ridley-Jopling). En el primer tipo, la evolución es progresiva y maligna, con nódulos en la piel, afectación simétrica y lenta de nervios, abundancia de bacilos acidorresistentes en las lesiones cutáneas, una prueba cutánea negativa a la lepromina (extracto de tejido lepromatoso). En la lepra lepromatosa hay notable deficiencia en la inmunidad mediada por células y la piel está infiltrada de linfocitos T supresores. En el tipo tuberculoide, la evolución es benigna y no progresiva, con un pequeño número de lesiones cutáneas maculares que contienen pocos bacilos con afección asimétrica grave de los nervios de inicio súbito y un resultado positivo en la prueba cutánea de lepromina. En ese tipo de

lepra está intacta la inmunidad mediada por células y la piel está infiltrada de linfocitos T colaboradores.

A veces surgen manifestaciones generales como anemia y linfadenopatía. Con frecuencia hay afección de ojos y en ocasiones surge amiloidosis.

Diagnóstico

Para el diagnóstico, el material de raspado de la piel o de la mucosa nasal obtenido con un bisturí, o de un fragmento para biopsia de la piel del lóbulo de la oreja se extiende en una laminilla y se tiñe con la técnica de Ziehl-Neelsen. En la biopsia de piel o de un nervio engrosado se observa una imagen histológica típica. Ningún procedimiento serológico es útil. Los métodos serológicos no destinados para sífilis a menudo generan resultados positivos falsos en la lepra.

Tratamiento

Las sulfonas como la dapsona (capítulo 28) son fármacos de primera línea que se utilizan contra la lepra tuberculoide y lepromatosa. Por lo común en los regímenes iniciales se incluyen RMP o clofazimina. Otros fármacos activos contra *M. leprae* comprenden minociclina, claritromicina y algunas fluoroquinolonas. Los tratamientos recomendados por la OMS son prácticos. Se necesitan a veces varios años de tratamiento para tratar de manera adecuada la lepra.

Epidemiología

La transmisión de la lepra se observa cuando se exponen niños de corta edad por lapsos duraderos a personas que expulsan y dispersan abundantes bacilos de la enfermedad. El material infeccioso para contactos en la familia lo constituyen más a menudo las secreciones nasales. El periodo de incubación va de dos a 10 años. Sin medidas profilácticas, en promedio, 10% de los niños expuestos pueden contagiarse de la enfermedad. El tratamiento tiende a disminuir y anular la infecciosidad de los pacientes. Es probable que los armadillos infectados de forma natural encontrados en Texas y México no intervengan en la transmisión de la lepra a seres humanos.

Prevención y control

En Estados Unidos, las recomendaciones actuales para evitar la lepra comprenden una exploración minuciosa de los contactos del grupo familiar y parientes cercanos; tal medida debe incluir la revisión completa de la piel y el examen del sistema nervioso periférico. El *US Public Health Service National Hansen's Disease program* no recomienda la profilaxia sistemática con dapsona. En sujetos cuyos signos y síntomas sugieren lepra pero en quienes no se ha hecho el diagnóstico definitivo, pudiera convenir un lapso terapéutico de prueba.

La BCG proporciona cierta protección contra la lepra en especial en casos de contactos domésticos.

Verificación de conceptos

- NTM es un grupo heterogéneo de microorganismos que por lo general vive en el entorno e incluye saprófitos y patógenos de humanos.
- NTM se puede subclasificar en proliferadores rápidos (que crecen en < 7 días) y proliferadores lentos. Cada grupo se subdivide, todavía más, con base en la producción de pigmento.
- Entre los NTM aislados más a menudo están los miembros de MAC, que causan enfermedades graves en enfermos de sida y otros con neumopatías crónicas.
- *M. kansasii* causa infecciones pulmonares que simulan la tuberculosis. El cuadro clínico mejora con la administración de INH, RIF y EMB.
- Los proliferadores rápidos son heterogéneos y los más prevalentes son el complejo de *M. fortuitum, M. chelonae* y *M. abscessus*. Este último ocasiona la enfermedad más grave del grupo y suele ser resistente a múltiples fármacos.
- *M. leprae* ocasiona la lepra. El microorganismo no prolifera en cultivos y por ello el diagnóstico es difícil. El tratamiento incluye dapsona, RMP y clofazimina; suele durar varios años.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Varón de 60 años de edad con el antecedente en los últimos cinco meses, de debilidad progresiva y pérdida de peso de 13 kg junto con fiebre intermitente, escalofríos, y tos crónica y productiva con esputo amarillo, a veces con estrías de sangre. Se obtuvo una muestra de esputo y en el frotis se identificaron innumerables bacterias acidorresistentes. En el cultivo del esputo se detectó *Mycobacterium tuberculosis*. De los regímenes terapéuticos, ¿cuál es el más adecuado como terapia inicial?
   (A) Isoniazida y rifampicina
   (B) Sulfametoxazol/trimetoprima y estreptomicina
   (C) Isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol
   (D) Isoniazida, cicloserina y ciprofloxacino
   (E) Rifampicina y estreptomicina
2. Si la *Mycobacterium tuberculosis* aislada del paciente del primer caso resulta ser resistente a la isoniazida, el mecanismo posible de tal fenómeno depende de:
   (A) Lactamasa β
   (B) Mutaciones en el gen de catalasa-peroxidasa
   (C) Alteraciones en la subunidad β de la RNA polimerasa
   (D) Mutaciones en el gen de girasa de DNA
   (E) Mutaciones en los genes que codifican la proteína S12 y el rRNA 16S
3. Una mujer de 47 años que acude por primera vez con el antecedente de haber tenido en los últimos tres meses tos progresiva, pérdida de peso y fiebre. En las radiografías de tórax se observa enfermedad cavitaria bilateral que sugiere tuberculosis. En el cultivo de esputo se identifica la proliferación de un bacilo acidorresistente fotocromógeno (adquiere un color naranja cuando se expone a la luz). El microorganismo muy probablemente es:
   (A) *Mycobacterium tuberculosis*
   (B) *Mycobacterium kansasii*
   (C) *Mycobacterium gordonae*
   (D) Complejo de *Mycobacterium avium*
   (E) *Mycobacterium fortuitum*
4. Una mujer asiática de 31 años es hospitalizada después de mostrar durante siete semanas un cuadro cada vez más intenso de malestar general, mialgias, tos no productiva y disnea. Todos los días ha tenido fiebre de 38 a 39 °C y en fecha reciente perdió 5 kg de peso. Hace siete años, al internarse en Estados Unidos, no tenía manifestaciones anormales en sus radiografías de tórax. La

abuela falleció de tuberculosis cuando ella era una lactante. La radiografía actual de tórax es normal; los resultados de otras pruebas indican disminución del valor hematócrito e irregularidades de las pruebas de función hepática. En la biopsia de hígado y de médula ósea se advierten granulomas con células gigantes y bacilos acidorresistentes. Probablemente tenga una infección por:

(A) *Mycobacterium leprae*
(B) *Mycobacterium fortuitum*
(C) *Mycobacterium ulcerans*
(D) *Mycobacterium gordonae*
(E) *Mycobacterium tuberculosis*

5. Es de extrema importancia que la mujer del ejemplo anterior se someta a estudios en busca de:

(A) VIH/sida
(B) Fiebre tifoidea
(C) Absceso hepático
(D) Linfoma
(E) Paludismo

6. En lo que se refiere a la mujer de la pregunta número 4, un aspecto de preocupación es que pudiera estar infectada con una micobacteria que es:

(A) Susceptible sólo a la isoniazida
(B) Resistente a la estreptomicina
(C) Resistente a la claritromicina
(D) Susceptible sólo al ciprofloxacina
(E) Resistente a la isoniazida y la rifampicina

7. El médico observa a un varón de 40 años que pide limosna en la calle de un poblado de India. Muestra el cuarto y quinto dedos "en garra" con pérdida de las zonas distales de los dedos de ambas manos, lo cual sugiere claramente lepra. El agente causal del trastorno es:

(A) Susceptible a la isoniazida y la rifampicina
(B) Prolifera en zonas del cuerpo cuya temperatura es menor de 37 °C
(C) Se puede cultivar en el laboratorio, con el medio Middlebrook 7H11
(D) Se le identifica en un gran número de biopsias y lesiones de lepra tuberculoide
(E) Suele infectar a personas de Texas, porque los armadillos son hospedadores de *Mycobacterium leprae*

8. De los planteamientos siguientes en cuanto al derivado proteínico purificado (PPD) y la prueba cutánea de tuberculina: ¿cuál es el más acertado?

(A) Se recomienda practicar cada cinco años pruebas cutáneas con PPD a todos los estudiantes de medicina y otras ciencias de la salud.
(B) Las personas a quienes se aplicó BCG, en raras ocasiones (si es que así ocurre) muestran conversión a la positividad de pruebas cutáneas de derivado proteínico purificado.
(C) La prueba cutánea intradérmica por lo común se interpreta 4 h después de su práctica
(D) La prueba cutánea positiva con tuberculina señala que la persona en el pasado se infectó con *Mycobacterium tuberculosis* y puede seguir portando micobacterias viables.
(E) La positividad de una prueba cutánea de PPD denota si la persona es inmune a tuberculosis activa.

9. Una mujer de 72 años tiene una prótesis en la articulación coxofemoral a causa de artropatía degenerativa. Una semana después de la colocación tuvo fiebre y dolor articular. Se hizo exploración de la articulación y se envió el líquido para el cultivo corriente y para la búsqueda de microorganismos acidorresistentes en cultivo. Después de dos días de incubación no hubo proliferación en ninguno de los medios. Sin embargo, después de cuatro días proliferaron bacilos en la placa de agar sangre de cordero y proliferaron bacilos acidorresistentes de aspecto similar, en el cultivo en busca de bacterias acidorresistentes. Existe la posibilidad de que la persona tenga infección por:

(A) *Mycobacterium tuberculosis*
(B) *Mycobacterium chelonae*
(C) *Mycobacterium leprae*
(D) *Mycobacterium kansasii*
(E) Complejo de *Mycobacterium avium*

10. Un niño de 10 años muestra una infección primaria pulmonar con *Mycobacterium tuberculosis.* De las manifestaciones siguientes de tuberculosis, ¿cuál es la más exacta?

(A) En la tuberculosis primaria, surge una lesión exudativa activa que se propaga con rapidez hacia los vasos y ganglios linfáticos regionales.
(B) La lesión exudativa de la tuberculosis primaria suele curar con lentitud
(C) Si se desarrolla tuberculosis años después, será resultado de otra exposición a *M. tuberculosis*
(D) En la tuberculosis primaria, la respuesta inmunitaria del paciente destruye todas las *Mycobacterium tuberculosis* existentes
(E) En la tuberculosis primaria, el sistema inmunitario es estimulado, pero la prueba cutánea con PPD sigue siendo negativa hasta la segunda exposición a *Mycobacterium tuberculosis.*

11. De los planteamientos siguientes en cuanto al método de liberación de interferón-γ (IGRA), ¿cuál es el más acertado?

(A) Son técnicas útiles para valorar a sujetos inmunodeficientes, en busca de tuberculosis activa
(B) Detectan antígenos presentes en todas las especies de *Mycobacterium*
(C) No se les practica todavía para estudios clínicos en Estados Unidos
(D) Se les practica con sondas moleculares que detectan DNA del microorganismo
(E) Se recurre a ellos en vez de la prueba cutánea de tuberculina para valorar la posibilidad de tuberculosis latente

12. ¿Entre qué grupo de individuos *Mycobacterium abscessus* muy a menudo causa neumopatía?

(A) Niños de corta edad expuestos a suciedad
(B) Estadounidenses de raza negra fumadores
(C) Mujeres caucásicas de edad avanzada que no fuman
(D) Varones de origen latino que trabajan al aire libre
(E) Personas que viven en la zona noroccidental de Estados Unidos

13. Una micobacteria, recientemente identificada, de proliferación rápida que ha surgido como causa importante de infecciones en los catéteres venosos centrales es:

(A) *Mycobacterium phlei*
(B) *Mycobacterium mucogenicum*
(C) *Mycobacterium xenopi*
(D) *Mycobacterium smegmatis*
(E) *Mycobacterium terrae*

14. La definición de tuberculosis ampliamente resistente a fármacos (XDR) incluye:

(A) Resistencia a la isoniazida
(B) Resistencia a una fluoroquinolona
(C) Resistencia a la capreomicina, amicacina y canamicina
(D) Resistencia a la rifampicina
(E) Todos los fármacos mencionados

15. Todos los microorganismos señalados son micobacterias de proliferación rápida, *excepto*:
    (A) *Mycobacterium fortuitum*
    (B) *Mycobacterium abscessus*
    (C) *Mycobacterium mucogenicum*
    (D) *Mycobacterium nonchromogenicum*
    (E) *Mycobacterium chelonae*

Respuestas

1. C	6. E	11. E
2. B	7. B	12. C
3. B	8. D	13. B
4. E	9. B	14. E
5. A	10. A	15. D

BIBLIOGRAFÍA

Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, *et al.*: Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med* 2010;363:1005-1015.

Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: Infections due to nontuberculous mycobacteria other than *Mycobacterium avium-intracellulare*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for use of an isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(48):1650-1653.

Cohn DL, O'Brien RJ, Geiter LJ, *et al.*: Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. ATS/CDC Statement Committee on Latent Tuberculosis Infection. *MMWR Recomm Rep* 2000;49(RR-6):1-51.

Fitzgerald D, Sterling TR, Haas DW: *Mycobacterium tuberculosis*. En: L, Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

Gordon FM, Horsburgh CR Jr: *Mycobacterium avium* complex. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA *et al.*; ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee; American Thoracic Society; Infectious Disease Society of America: An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367-416.

Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, *et al.*: IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention: Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection—United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(No. RR-5):1-25.

Pfyffer GE, Paliciva F: *Mycobacterium*: General characteristics, laboratory detection, isolation, and staining procedures. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2011.

Renault CA, Ernst JD: *Mycobacterium leprae*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

Richter E, Brown-Elliott BA, Wallace RJ: *Mycobacterium:* Laboratory characteristics of slowly growing mycobacteria. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2011.

Ridley DS, Jopling WH: Classification of leprosy according to immunity: A five group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966;34:255-273.

World Health Organization: Guidelines on the management of latent tuberculosis infection. WHO Press, 2015, available at www.who.int.

Yew WW, Sotgiu G, Migliori GB: Update in tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease 2010. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:180-185.

CAPÍTULO

24

Espiroquetas y otros microorganismos espirilares

Las espiroquetas componen un gran grupo heterogéneo de bacterias móviles espirilares. Una familia (*Spirochaetaceae*) de la orden Spirochaetales consiste en dos géneros cuyos miembros son patógenos para el hombre, *Borrelia* y *Treponema*. La otra familia (Leptospiraceae) incluye un género de importancia médica: *Leptospira*.

Las espiroquetas poseen muchas características estructurales en común, como lo ejemplifica *Treponema pallidum* (figura 24-1). Son bacilos gramnegativos, largos, finos, helicoidales, espirilares o a manera de "sacacorcho". Los bacilos *T pallidum* poseen una **vaina externa** o una cubierta de glucosaminoglucanos. En el interior de la vaina está la membrana externa que contiene peptidoglucano y que conserva la integridad estructural del microorganismo. Los **endoflagelos** (filamentos axiales) son organelos similares a flagelos en el espacio periplásmico, rodeados por la membrana externa. Los endoflagelos comienzan en cada extremo del microorganismo y describen una curva a su alrededor que se extiende hasta un punto medio, y lo cubren. En el interior de los endoflagelos está la membrana interna (citoplásmica) que confiere estabilidad osmótica y cubre el cilindro protoplásmico. Dentro de la célula, cerca de la membrana interna se encuentran una serie de tubos citoplásmicos (fibrillas corporales). Los treponemas se reproducen por fisión transversa.

TREPONEMA PALLIDUM Y SÍFILIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

T. pallidum es una espiral fina que mide 0.2 µm de ancho y 5 a 15 µm de largo, aproximadamente. Las espiras están espaciadas regularmente a una distancia de 1 µm, entre sí. Los microorganismos son muy móviles y rotan de manera constante alrededor de sus endoflagelos, incluso después de fijarse a las células a través de sus extremos ahusados. El eje longitudinal del espirilo por lo común es recto, pero a veces está flexionado de modo que forma un círculo completo en algún momento, y vuelve después a su posición normal recta.

Las espiras son tan finas que no se les identifica con facilidad, salvo que se utilice tinción inmunofluorescente o de campo oscuro. No captan de manera adecuada la anilina y otros colorantes, pero se les observa en tejidos si se les tiñe con el método de impregnación argéntica.

B. Cultivo

Como dato curioso, nunca se ha logrado el cultivo de *T. pallidum* patógeno en medios artificiales, huevos fecundados o cultivos de tejido.

En líquidos de suspensión apropiados y en presencia de sustancias reductoras, *T. pallidum* puede conservar su movilidad de tres a seis días a 25 °C. En sangre completa o plasma almacenado a 4 °C, los microorganismos siguen siendo viables durante 24 h, como mínimo, y ello adquiere importancia potencial en el caso de las transfusiones de sangre.

C. Reacciones a los agentes físicos y químicos

La sequedad y el incremento de la temperatura a 42 °C mata con rapidez a las espiroquetas. Los treponemas son inmovilizados y destruidos rápidamente por arsenicales trivalentes, mercurio y bismuto (contenidos en fármacos antisifilíticos de interés histórico solamente). La penicilina es treponemicida en concentraciones muy pequeñas, pero la destrucción es lenta, tal vez por la inactividad metabólica y la lenta proliferación de *T. pallidum* (el tiempo de división calculado es de 30 h). En la sífilis no se ha demostrado resistencia a la penicilina.

D. Genoma

El genoma de *T. pallidum* es un cromosoma circular que tiene en promedio 1 138 000 pares de bases, lo que es bajo para una bacteria. Muchas bacterias patógenas tienen elementos que pueden ser transponibles, pero *T. pallidum* no los tiene, lo cual sugiere que se conserva firmemente el genoma y pudiera explicar su susceptibilidad continua a la penicilina. Son pocos los genes que intervienen en la producción de energía y síntesis de nutrientes, lo cual indica que *T. pallidum* los obtiene del hospedador.

Estructura antigénica

El hecho de que *T. pallidum* no se pueda cultivar *in vitro* ha frenado considerablemente la definición y caracterización de sus antígenos. La membrana externa rodea el espacio periplásmico y el complejo de peptidoglucanos-membrana citoplásmica. Están presentes proteínas de membrana que contienen lípidos con uniones covalentes en sus terminaciones amino. Los lípidos al parecer fijan las proteínas a la membrana citoplásmica o a la externa, y de este modo vuelven inaccesibles las proteínas a los anticuerpos. Los endoflagelos están en el espacio periplásmico. *T. pallidum* posee hialuronidasa que degrada el ácido hialurónico en la sustancia fundamental del tejido, y posiblemente refuerza la capacidad invasora del microorganismo. Los endoflagelos están compuestos de tres proteínas centrales que muestran homología con otras proteínas de la familia de las flagelinas bacterianas, además una proteína de la cubierta sin relación alguna. La cardiolipina es un componente importante de los antígenos del treponema.

apter 24_Carroll_4R.indd 323 14/04/16

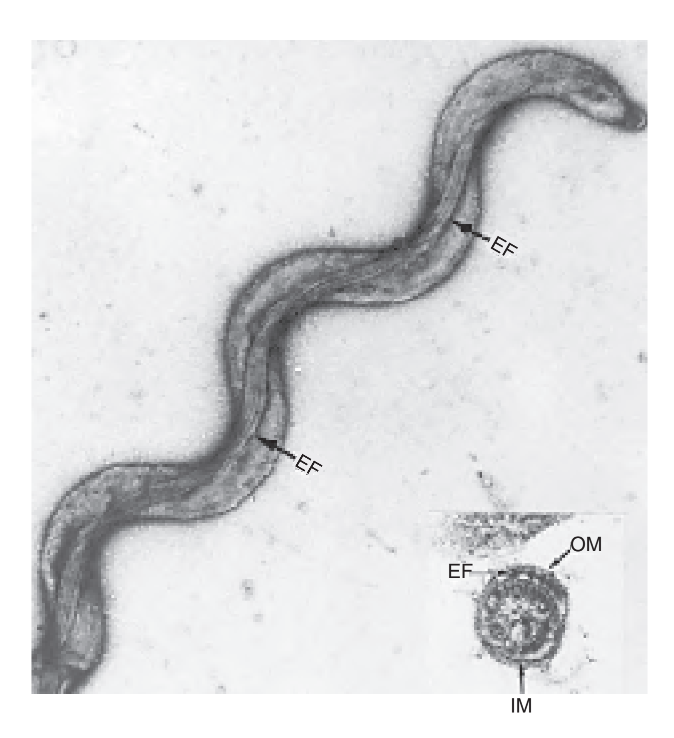


FIGURA 24-1 Micrografía electrónica de *Treponema pallidum,* subespecie *pallidum* en preparación completa. Se identifican fácilmente los endoflagelos. **Recuadro inferior:** micrografía electrónica de *Treponema pallidum*, en corte fino. Se destaca la posición de los endoflagelos (EF) en el espacio periplásmico entre la membrana interna (IM) y la externa (OM). (Por cortesía de EM Walker.)

Los seres humanos con sífilis generan anticuerpos capaces de teñir *T. pallidum* por inmunofluorescencia indirecta, de inmovilizar y destruir a *T. pallidum* móviles y vivos, y de fijar complemento en presencia de una suspensión de los microorganismos o de espiroquetas similares. Las espiroquetas también causan el desarrollo de una sustancia distinta, similar a anticuerpos, reagina (IgE) que confiere positividad a las pruebas de fijación de complemento (CF, *complement fixation*) y floculación, con suspensiones acuosas de cardiolipina extraída de tejidos normales de mamíferos. La reagina y el anticuerpo antitreponémico se han utilizado para el diagnóstico serológico de la sífilis.

Patogenia, anatomía patológica y manifestaciones clínicas

A. Sífilis adquirida

La infección natural con *T. pallidum* se limita al hospedador humano; suele transmitirse por contacto sexual, y la lesión infectante se localiza en la piel y las mucosas de los genitales. Sin embargo, en 10 a 20% de los casos la lesión primaria se localiza en el interior del recto, en el área perianal o en la boca; puede surgir en cualquier zona corporal. Es probable que *T. pallidum* penetre mucosas intactas o lo hace por una solución de continuidad en la epidermis. Con base en pruebas experimentales en conejos, tan sólo cuatro a ocho espiroquetas pueden causar infección.

Las espiroquetas se multiplican en el sitio de penetración y algunas proliferan y llegan a ganglios linfáticos vecinos y de ahí a la circulación sanguínea. Dos a 10 semanas después de la infección, surge una pápula en el sitio de la misma y por lisis hística se transforma en úlcera con una base limpia y dura ("chancro duro"). La inflamación se caracteriza porque en ella predominan linfocitos y plasmacitos; dicha "lesión primaria" siempre cicatriza de manera espontánea, pero dos a 10 semanas después aparecen las lesiones "secundarias" que consisten en maculopápulas rojas en cualquier zona del cuerpo, incluidas las manos y los pies, y condilomas que son pápulas húmedas pálidas en la región anogenital, las axilas y la boca. El paciente también puede manifestar meningitis sifilítica, coriorretinitis, hepatitis, nefritis (similar a la producida por complejos inmunitarios) o periostitis. Las lesiones secundarias desaparecen de manera espontánea. En los dos tipos de lesiones abundan las espiroquetas y son muy infecciosas. Las lesiones contagiosas pueden reaparecer en término de tres a cinco años después de ocurrida la infección, pero tras ese lapso el paciente deja de ser infeccioso. La infección sifilítica puede asumir un estado subclínico y el paciente pasar en forma asintomática por las dos fases o por ambas, o los signos terminan por aparecer en lesiones terciarias.

En casi 30% de los casos, la infección primaria sifilítica evoluciona de manera espontánea hasta curar del todo, sin tratamiento. En otro 30%, la infección sin tratamiento permanece latente (se le puede detectar por los resultados positivos de pruebas serológicas). En el resto de los casos, la enfermedad evoluciona a la "fase terciaria" que se caracteriza por lesiones granulomatosas (gomas) en la piel, los huesos y el hígado; por cambios degenerativos en el sistema nervioso central (sífilis meningovascular, paresias, tabes) o por lesiones cardiovasculares (aortitis, aneurisma aórtico, insuficiencia de válvula aórtica). En las lesiones terciarias, rara vez se detectan treponemas y una respuesta hística demasiado intensa tendría que atribuirse a la hipersensibilidad hacia los microorganismos. Sin embargo, en la sífilis tardía muchas veces se detectan treponemas en los ojos, o el sistema nervioso central.

B. Sífilis congénita

La embarazada sifilítica transmite *T. pallidum* al feto por la placenta, desde la décima a la decimoquinta semanas de la gestación. Algunos de los fetos infectados mueren y son abortados de manera espontánea en tanto que otros están muertos al nacer (mortinatos). Otros más nacen vivos, pero muestran signos de sífilis congénita en la niñez, como queratitis intersticial, dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, periostitis y diversas anomalías del sistema nervioso central. El tratamiento adecuado de la mujer durante el embarazo impide la sífilis congénita. Los títulos de reagina en la sangre del producto aumentan con la infección activa, pero disminuyen con el paso del tiempo si el anticuerpo fue transmitido de manera pasiva, de su madre. En la infección congénita, el recién nacido sintetiza un anticuerpo de tipo IgM contra treponemas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen líquido hístico obtenido al "exprimir" las lesiones primarias superficiales para la identificación de espiroquetas con microscopia en campo oscuro o inmunofluorescencia; tales muestras también pueden estudiarse por medio

de amplificación de ácido nucleico. Es posible obtener sangre para practicar estudios serológicos; el líquido cefalorraquídeo (CSF, *cerebrospinal fluid*) es útil para practicar el estudio VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) (véase adelante).

B. Examen en campo oscuro

Se coloca una gota de líquido o exudado hísticos en una laminilla y sobre ella un cubreobjetos para hacer una capa fina. Dentro de los siguientes 20 min después de haber tomado la muestra, se explora el preparado con un objetivo de inmersión en aceite con iluminación de campo oscuro, para identificar las espiroquetas móviles típicas. Es mejor no realizar microscopia de campo oscuro en material de lesiones dentro de la cavidad bucal, porque no es posible diferenciar los microorganismos patógenos, de las espiroquetas comensales.

Los treponemas desaparecen de las lesiones en término de horas después de haber comenzado la antibioticoterapia.

C. Inmunofluorescencia

El líquido o el exudado hístico se extiende en una laminilla, se seca al aire y se envía al laboratorio; en él se fija y tiñe con un anticuerpo antitreponémico marcado con fluoresceína, y se examina con un microscopio de inmunofluorescencia en busca de las típicas espiroquetas fluorescentes.

D. Pruebas serológicas para sífilis

Los métodos en cuestión utilizan antígenos no treponémicos o treponémicos.

1. Pruebas no treponémicas. Estas pruebas se utilizan generalmente para detección de sífilis. Se les practica ampliamente y pueden ser objeto de automatización para facilitar su realización en gran número, y son poco costosas. Además de funcionar como método de detección, también se les utiliza para vigilar la eficacia del tratamiento. La desventaja de este tipo de pruebas es que no son muy sensibles en la fase primaria de la sífilis y se tornan positivas sólo después de que han transcurrido unas semanas de haber ocurrido la lesión inicial; puede haber resultados positivos falsos por otras enfermedades y también aparecer un fenómeno de prozona, en particular en la sífilis secundaria (el exceso de anticuerpos produce un resultado negativo en diluciones séricas pequeñas, pero positivo en diluciones mayores). Los antígenos en estos métodos contienen cantidades medidas de cardiolipina, colesterol y lecitina purificada, en cantidades suficientes para que surja un grado estandarizado de reactividad. Desde el punto de vista histórico, se extraía la cardiolipina del corazón o el hígado de reses, y se le agregaban lecitina y colesterol para reforzar la reacción con anticuerpos sifilíticos "reagina"; éstos son una muestra de anticuerpos de tipo IgM e IgG que reaccionan con el complejo de cardiolipina-colesterol-lecitina. Tales métodos se basan en el hecho de que las partículas del antígeno lípido permanecen dispersas en suero normal, pero floculan cuando se combinan con IgE. Para la práctica de las pruebas de VDRL y de reagina sérica sin calentamiento (**USR, *unheated serum reagin***), se necesita el estudio microscópico para detectar floculación. En el método de reagina plasmática rápida (**RPR, *rapid plasma reagin***) y del suero no calentado tratado con rojo de toluidina (**TRUST, *toluidine red unheated serum test***), se cuenta con partículas de color que quedan atrapadas dentro de la trama del complejo de antígeno-anticuerpo y así se pueden interpretar las pruebas sin la amplificación microscópica. Los resultados se obtienen en cuestión de minutos, particularmente si se agita la suspensión.

Los métodos no treponémicos generan resultados cuantitativos si se utilizan diluciones al doble de manera seriada. Es posible estimar la cantidad de reagina presente en el suero en forma de título, o de la máxima dilución que genera un resultado positivo. Los resultados cuantitativos son útiles para corroborar el diagnóstico y valorar el efecto del tratamiento. La positividad de los métodos no treponémicos surge después de dos a tres semanas en el caso de sífilis no tratada, y muestran un título alto en la sífilis secundaria. La positividad de estos métodos en forma típica cambia a negatividad a menudo en un lapso de seis a 18 meses, y por lo común a los tres años después del tratamiento eficaz de la sífilis. La prueba no treponémica positiva después de tratar la sífilis sugiere que el tratamiento no fue eficaz, o hubo reinfección.

El método VDRL se ha estandarizado para aplicarlo en CSF; el resultado cambia a positivo en la neurosífilis. Los anticuerpos de reagina por lo común no llegan al CSF desde la circulación sanguínea, sino que probablemente se forman en el sistema nervioso central en respuesta a la infección sifilítica. El diagnóstico serológico de **neurosífilis** es complejo.

2. Métodos con anticuerpos treponémicos. Los métodos de esta categoría miden anticuerpos contra antígenos de *T. pallidum*; se utilizan para saber si un resultado positivo obtenido de un método no treponémico realmente lo es, o es falso. El resultado positivo de un método treponémico en una muestra de suero que también genera positividad con un método no treponémico es un signo importante de que existe infección por *T. pallidum*. Los métodos tradicionales treponémicos son menos útiles en la detección porque una vez que son positivos después de la infección sifilítica primaria siguen siendo positivos durante toda la vida, independientemente del tratamiento antisifilítico. En los métodos treponémicos no se practican diluciones seriadas de suero y los resultados se notifican como reactivos o no reactivos (o a veces no concluyentes). Los métodos de anticuerpos treponémicos tienden a ser más caros que los no treponémicos, aspecto importante en la detección en grandes grupos de personas (como donantes de sangre).

Quizá el método treponémico más utilizado en Estados Unidos sea el de **aglutinación de partículas de *T. pallidum* (TP-PA, *T. pallidum*-particle agglutination)**, en el cual se agregan partículas de gelatina sensibilizadas con antígenos de *T. pallidum* subespecie *pallidum* a una dilución estándar de suero. Cuando los anticuerpos contra *T. pallidum* (IgG, IgM o ambos) reaccionan con las partículas sensibilizadas, se forma un conjunto de partículas aglutinadas en el cuenco del equipo de microdilución. Las partículas de gelatina que no están sensibilizadas se prueban con suero diluido para descartar aglutinación inespecífica.

Las pruebas de **hemaglutinación de *T. pallidum* (TPHA, *T. pallidum* hemagglutination)** y de **microhemaglutinación de *T. pallidum* (MHA-TP, microhemagglutination *T. pallidum*)** se basan en los mismos principios que TP-PA, pero

utilizan eritrocitos de carnero en vez de partículas de gelatina y fácilmente presentan aglutinación inespecífica.

El **método de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS, fluorescent treponemal antibody absorbed)** es el estudio con anticuerpos treponémicos utilizado desde hace años. Debido a la dificultad para realizarlo, este método se practica sólo en circunstancias particulares; utiliza inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos reactivos, que incluye microorganismos *T. pallidum* muertos, suero del enfermo al que se absorben espiroquetas de Reiter saprofitas tratadas por ultrasonido, además de anticuerpos contra la globulina humana γ marcada con un compuesto fluorescente. La presencia del anticuerpo treponémico fluorescente (FTA, *fluorescent treponema antibody*) de tipo IgM en la sangre de los recién nacidos es prueba fehaciente de infección en el interior del útero (sífilis congénita). La negatividad de FTA-ABS en el CSF tiende a descartar la presencia de neurosífilis, pero a veces surge la positividad de FTA-ABS en CFS por transferencia de anticuerpos del suero; no es útil en el diagnóstico de dicha entidad.

Se practican métodos múltiples relativamente similares que usan anticuerpos treponémicos, en formatos de enzimoinmunoanálisis (EIA, *enzyme immunoasay*) o quimioluminiscencia (CIA, *chemiluminescence*) para *T. pallidum*; estos métodos utilizan antígenos obtenidos por tratamiento ultrasonoro de *T. pallidum* o antígenos recombinantes. Se agrega una porción alícuota de suero con dilución estándar, a un cuenco sensibilizado de un equipo de microdilución. Después del lavado, se añade un conjugado marcado con enzimas y nuevo lavado, y enseguida se agrega un sustrato precursor. El cambio de color o CIA denota que el suero es reactivo. Algunos de estos métodos se practican en la forma automatizada de alto rendimiento, pero muchos laboratorios en la actualidad han invertido el algoritmo tradicional de detección sistemática. En vez de practicar inicialmente un método de cribado no treponémico y corroborar la situación con otro método treponémico, el alto rendimiento permite utilizar sólo un método treponémico más sensible. La ventaja es que aumenta la posibilidad de detectar a pacientes con enfermedad incipiente o trastorno latente no tratado (véase adelante).

Han surgido algunas preocupaciones en cuanto a la variabilidad en la realización entre estas metodologías, que originan una cifra mayor de resultados positivos falsos en el caso de estudiar poblaciones con baja prevalencia. Debido a esto, en Estados Unidos los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) han recomendado un algoritmo para confirmar la positividad de EIA o CIA, y para ello practican RPR cuantitativo u otro método no treponémico. Si el resultado de RPR es positivo, es posible una infección actual o anterior de sífilis. Si el resultado de RPR es negativo, se recomendará la práctica de más estudios como el caso de un método treponémico tradicional como TP-PA; si los resultados de este último son positivos, posiblemente existe sífilis; si el resultado es negativo, no existe tal posibilidad.

Inmunidad

La persona con sífilis o frambesia activas o latentes, al parecer es resistente a la sobreinfección por *T. pallidum*. Sin embargo, si son tratadas de manera adecuada las dos enfermedades en su fase inicial y se erradica la infección, el individuo se torna totalmente susceptible. Las diversas respuestas inmunitarias no permiten erradicar la infección ni detener su evolución.

Tratamiento

La penicilina en concentraciones de 0.003 U/ml posee una actividad treponemicida neta y constituye el fármaco de elección. La sífilis que ha durado menos de un año se trata con una sola inyección intramuscular de 2.4 millones de unidades de penicilina G benzatínica. En el caso de sífilis de mayor duración (antigua) o latente, se instaura el mismo tratamiento por la misma vía tres veces por semana, a intervalos semanales. En casos de neurosífilis es aceptable el mismo tratamiento, pero a veces se recomienda utilizar dosis mayores de penicilina intravenosa. A veces se le sustituye por otros antibióticos como tetraciclinas o eritromicina. Se piensa que el tratamiento de la gonorrea cura la sífilis en fase de incubación. Es necesaria la vigilancia a largo plazo. En la neurosífilis, a veces viven treponemas después de dicho tratamiento. En sujetos con sida infectados por VIH y *T. pallidum* surgen graves recidivas neurológicas de la sífilis tratada. En término de horas de haber comenzado el tratamiento puede surgir la reacción típica de Jarisch-Herxheimer, causada por la liberación de productos tóxicos de espiroquetas desvitalizadas o muertas.

Epidemiología, prevención y control

Con excepción de la sífilis congénita y la rara exposición ocupacional del personal médico, la sífilis se contagia por transmisión sexual. Es frecuente la reinfección en sujetos tratados. La persona infectada puede ser contagiosa tres a cinco años durante la sífilis primaria. La forma "tardía" que ha durado más de cinco años por lo común no es contagiosa. En consecuencia, las medidas de control dependen de: 1) tratamiento inmediato y adecuado de todos los casos identificados; 2) vigilancia de las fuentes de infección y los contactos para ser sometidos a tratamiento; 3) sexo seguro (uso de preservativos). En ocasiones se contagian en forma simultánea varias enfermedades de transmisión sexual; por tal razón es importante pensar en la posibilidad de sífilis cuando se haya identificado cualquier enfermedad de esa índole.

Verificación de conceptos

- No es posible cultivar *T. pallidum* en medios artificiales; por tal razón es necesario detectarla directamente en tejidos o exudados, por medio de microscopia de campo oscuro, inmunofluorescencia o métodos moleculares.
- Las infecciones por *T. pallidum* se circunscriben a humanos y se contagian por contacto sexual directo y con menor frecuencia por vía transplacentaria (enfermedad congénita) o por exposición ocupacional.
- La lesión primaria en el sitio de inoculación es el llamado "chancro duro" indoloro, un tipo de úlcera genital.
- Sin tratamiento, la infección primaria puede originar trastornos secundarios, por la diseminación sistémica de las espiroquetas; la enfermedad latente se caracteriza por la ausencia de síntomas, pero positividad de los resultados de

un estudio serológico. La fase terciaria comprende enfermedad grave en el sistema nervioso central o manifestaciones cardiacas.

- Además de la detección directa en muestras clínicas, a menudo el diagnóstico se corrobora por estudios serológicos. El algoritmo tradicional de investigación comprende la búsqueda sistemática en primer lugar con un método no treponémico y después la confirmación con un método treponémico como TP-PA.
- El hecho de contar con métodos como EIA o CIA de alto rendimiento ha permitido invertir la secuencia de pruebas; muchos laboratorios comienzan la detección sistemática con algunos de los estudios treponémicos, a los que sigue la confirmación por un método no treponémico. La preocupación porque aparezcan resultados positivos falsos ha hecho que en Estados Unidos los CDC recomienden seguir un algoritmo que confirme la negatividad de un estudio no treponémico, y para ello utilizan uno de los métodos treponémicos tradicionales.
- La penicilina es el fármaco de elección para tratar todas las etapas de la sífilis.

BORRELIA

ESPECIES DE *BORRELIA* Y BORRELIOSIS

La borreliosis en su forma epidémica es causada por *Borrelia recurrentis*, transmitida por el piojo del cuerpo humano; no se observa en Estados Unidos. La borreliosis endémica es causada por las borrelias transmitidas por garrapatas del género *Ornithodoros*. El nombre de especie del género *Borrelia* suele ser igual al de la garrapata. Por ejemplo, *Borrelia hermsii*, que es causa de la borreliosis en la zona occidental de Estados Unidos se transmite por *Ornithodoros hermsii*.

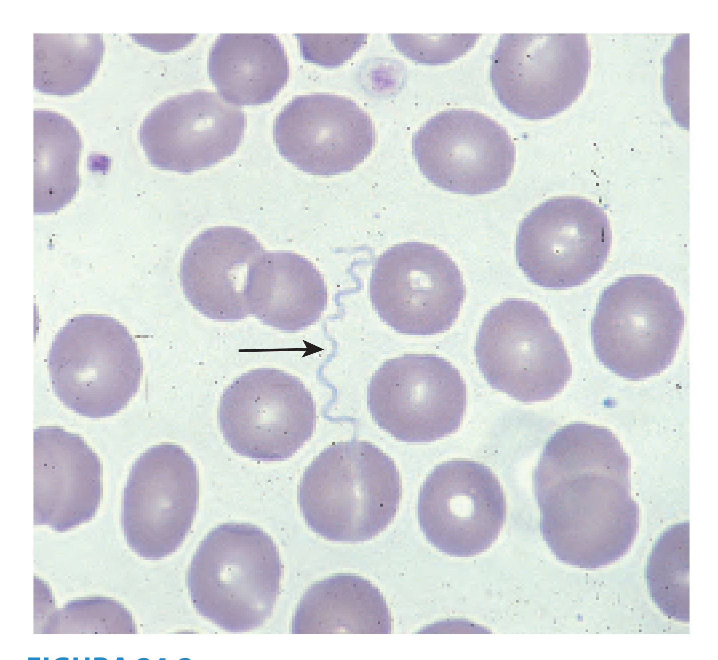


FIGURA 24-2 *Borrelia* (*flecha*) en un frotis de sangre periférica de un paciente de borreliosis. Amplificación original × 1000.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las borrelias forman espirales irregulares de 10 a 30 μm de largo y 0.3 μm de ancho. La distancia entre una y otra espira varía de 2 a 4 μm. Los microorganismos son muy flexibles y se desplazan por flotación y por giros. Las borrelias captan fácilmente colorantes bacteriológicos y también tinción sanguínea tal como Giemsa y Wright (figura 24-2).

B. Cultivo

Es posible cultivar el microorganismo en medios líquidos que contengan sangre, suero o tejidos, pero pierde rápidamente su carácter patógeno en animales si es transferido repetidamente *in vitro*. La proliferación es rápida en embriones de pollo cuando se inocula la sangre de pacientes a la membrana corioalantoidea.

C. Características de crecimiento

Son pocos los datos sobre las necesidades metabólicas o la actividad de las borrelias; a 4 °C sobreviven varios meses en sangre infectada o en cultivo. En algunas garrapatas (pero no en los piojos), las espiroquetas pasan de una generación a otra.

D. Variaciones

La única variación importante de *Borrelia* es en su estructura antigénica.

Estructura antigénica

Después de la infección por borrelias surgen títulos altos de anticuerpos. La estructura antigénica de los microorganismos cambia en el curso de una infección aislada. Los anticuerpos producidos inicialmente actúan como un factor selectivo que permite la supervivencia únicamente de variantes distintas o peculiares desde el punto de vista antigénico. La evolución recidivante de la enfermedad al parecer proviene de la multiplicación de las variantes antigénicas, situación en la cual el hospedador debe sintetizar nuevos anticuerpos. La recuperación definitiva (después de tres a 10 recidivas) depende de la presencia simultánea de anticuerpos contra algunas de las variantes antigénicas.

Anatomía patológica

En los enfermos que fallecen se identifican gran número de espiroquetas en el bazo y el hígado, focos necróticos en otros órganos parenquimatosos y lesiones hemorrágicas en los riñones y el tubo digestivo. En ocasiones se ha demostrado la presencia de espiroquetas en el líquido cefalorraquídeo y en el cerebro de personas que han tenido meningitis. En animales de experimentación (cobayos, ratas) el cerebro puede actuar como reservorio de borrelias después de que desaparecieron de la sangre.

Patogenia y manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de tres a 10 días. El comienzo de la enfermedad es repentino, con escalofríos e hipertermia súbita. En ese lapso hay abundantes espiroquetas en la sangre. La fiebre persiste por tres a cinco días para disminuir, y la persona

queda debilitada, pero no enferma. El periodo afebril dura cuatro a 10 días y después hay un segundo ataque de escalofríos, fiebre, cefalea intensa y malestar general. Se suceden tres a 10 de las recidivas mencionadas, cada vez de menor intensidad. En las etapas febriles (en particular cuando aumenta la temperatura), los microorganismos en la sangre están presentes, en tanto que no lo están en los periodos afebriles.

En la fase febril aparecen anticuerpos contra las espiroquetas y el ataque probablemente termina gracias a sus efectos aglutinantes y líticos. Tales anticuerpos pueden seleccionar desde el punto de vista antigénico variantes particulares que se multiplican y originan la recidiva. Es posible aislar variedades antigénicas particulares de borrelias de un solo enfermo en sus recidivas seriadas, incluso después de inoculación experimental con un solo microorganismo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras de sangre se obtienen durante la fase de incremento de la fiebre, para extensiones e inoculación en animales.

B. Frotis

En los frotis de sangre finos o gruesos, teñidos con colorantes de Wright o Giemsa, se identifican entre los eritrocitos grandes espiroquetas con espiras amplias.

C. Inoculación en animales

La inoculación de ratones blancos o ratas de poca edad se hace por vía intraperitoneal, con sangre. Dos a cuatro días después se estudian extensiones teñidas de la sangre de la cola, en busca de espiroquetas.

D. Serología

Las espiroquetas obtenidas en cultivos pueden servir de antígenos para pruebas en líquido cefalorraquídeo, pero es difícil la preparación de antígenos satisfactorios. Los sujetos que presentan la borreliosis epidémica (transmitida por piojos) pueden mostrar positividad de VDRL.

Inmunidad

La inmunidad después de la infección suele durar poco tiempo.

Tratamiento

La enorme variabilidad de las remisiones espontáneas de la borreliosis dificulta la valoración de la eficacia quimioterapéutica. Según se piensa, son eficaces tetraciclinas, eritromicina y penicilina. El tratamiento para un solo día puede bastar para tratar un ataque individual.

Epidemiología, prevención y control

La borreliosis es endémica en muchas zonas del mundo. Su reservorio principal lo constituye la población de roedores, que sirve de fuente de infección de las garrapatas del género *Ornithodoros*. La distribución de los focos endémicos y la incidencia estacional de la enfermedad dependen en gran medida de las características ecológicas de las garrapatas en áreas diferentes. En Estados Unidos, los artrópodos infectados se detectan en todo el Oeste, en especial en zonas montañosas, pero los casos clínicos son raros. En la garrapata, la *Borrelia* puede transmitirse por un mecanismo transovárico, de una generación a la siguiente.

Las espiroquetas aparecen en todos los tejidos de la garrapata y pueden ser transmitidas por la picadura o al triturar el artrópodo. La enfermedad transmitida por garrapatas no es epidémica. Sin embargo, si la persona infectada tiene piojos, éstos se infectan al chupar sangre; cuatro a cinco días después pueden constituir una fuente de infección para otras personas. La infección de los piojos no se transmite a la generación siguiente y la enfermedad es resultado de triturar y frotar el artrópodo en la herida causada al picar. En las poblaciones infectadas por piojos pueden surgir epidemias graves y la transmisión se facilita por factores como el hacinamiento, la desnutrición y el clima frío.

En zonas endémicas, la infección de seres humanos a veces es consecuencia del contacto con la sangre y los tejidos de roedores infectados. La tasa de mortalidad de la enfermedad endémica es baja, pero en las epidemias puede llegar a 30 por ciento.

La prevención se basa en evitar la exposición a las garrapatas y los piojos y en la eliminación de los piojos (limpieza y uso de insecticidas).

BORRELIA BURGDORFERI Y ENFERMEDAD DE LYME

La enfermedad de Lyme recibió su nombre de Lyme, un poblado de Connecticut en que se identificaron grupos de casos en niños. Desde 1992, se ha vinculado la presencia de tres especies de *Borrelia* con la aparición de la enfermedad de Lyme: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelli* y *Borrelia garinii*. Las tres especies causan enfermedades en Europa, pero sólo *B. burgdorferi* origina enfermedades en Estados Unidos. La espiroqueta *B. burgdorferi* se transmite a los humanos por la picadura de la garrapata pequeña del género *Ixodes*. La enfermedad muestra manifestaciones inmediatas, que incluyen una lesión cutánea característica, el **eritema migratorio**, junto con síntomas similares al resfriado, y manifestaciones tardías, a menudo artralgias y artritis.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

B. burgdorferi es un microorganismo espiroideo de 20 a 30 μm de largo y 0.2 a 0.3 μm de ancho. La distancia entre una y otra espiras varía de 2 a 4 μm. Los microorganismos tienen un número variable (7 a 11) de endoflagelos, muy móviles. *B. burgdorferi* capta fácilmente los colorantes ácidos o anilinas y es visible con la impregnación argéntica.

B. Características del cultivo y crecimiento

B. burgdorferi prolifera fácilmente en medios líquidos complejos como el de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK II, Barbour-Stoenner-Kelly medium). A este medio se pueden agregar

rifampicina, fosfomicina (fosfonomicina) y anfotericina B, para disminuir el índice de contaminación del cultivo por otras bacterias y hongos. *B. burgdorferi* se aísla con mucha facilidad de las lesiones cutáneas de eritema migratorio, y es difícil detectarlo en otros sitios; también se le puede obtener en cultivo a partir de garrapatas. Debido a que el cultivo es un método complejo y especializado con un índice bajo de confirmación diagnóstica se le utiliza poco.

Estructura y variación antigénica

B. burgdorferi tiene un aspecto similar al de otras espiroquetas. Se ha logrado conocer la secuencia de todo el genoma de dicho microorganismo y ello ha permitido anticipar sus innumerables estructuras antigénicas. Posee un cromosoma lineal poco común de unas 950 kb y múltiples plásmidos circulares y lineales. También hay un gran número de secuencias de lipoproteínas que incluyen las proteínas OspA-F en la superficie externa. Según expertos, la expresión diferencial de dichas proteínas permite a *B. burgdorferi* vivir en hospedadores muy diferentes como garrapatas y mamíferos. OspA y OspB, junto con la lipoproteína 6.6 son expresados de manera predominante en la garrapata. Hay aumento en el número de proteínas de la superficie externa durante la fase de alimentación, en que los microorganismos migran del intestino medio a la glándula salival de la garrapata; ello pudiera explicar el hecho de que la garrapata debe alimentarse 24 a 48 h antes de transmitir *B. burgdorferi*.

Patogenia y manifestaciones clínicas

La transmisión de *B. burgdorferi* a seres humanos ocurre por la inyección del microorganismo a través de la saliva de la garrapata o por regurgitación del contenido del intestino medio de ésta. El microorganismo se adhiere a los proteoglucanos en las células del hospedador, situación mediada por un receptor de glucosaminoglucano que poseen las borrelias. Una vez que la garrapata deposita el microorganismo, éste migra del sitio y produce la característica lesión cutánea. La diseminación se hace por los linfáticos o la sangre a otros sitios de la piel y el sistema musculoesquelético y otros órganos más.

La enfermedad de Lyme, a semejanza de otras espiroquetosis, aparece en fases y tiene manifestaciones iniciales y tardías. Tres días a cuatro semanas después de la picadura de la garrapata, la lesión cutánea peculiar define la etapa 1; la lesión, llamada eritema migratorio, comienza como un área plana y enrojecida cerca de la picadura y poco a poco se expande, aunque su centro se decolora. Con la lesión cutánea coexiste un cuadro similar al de un resfriado, con fiebre, escalofríos, mialgias y cefalea. La segunda etapa aparece semanas o meses después e incluye artralgia y artritis; manifestaciones neurológicas como meningitis, parálisis del nervio facial y radiculopatía dolorosa, y trastornos del corazón con defectos de la conducción y miopericarditis. La tercera etapa comienza meses o años después, con ataque crónico de la piel, del sistema nervioso o de las articulaciones. Se han aislado espiroquetas de todos los sitios mencionados y es posible que algunas de las manifestaciones tardías sean causadas por el depósito de inmunocomplejos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En algunos enfermos sintomáticos, el diagnóstico de la fase inicial de la enfermedad de Lyme se puede corroborar sobre bases clínicas al detectar la lesión cutánea peculiar; si ésta no se observa o se encuentra en una etapa ulterior de la enfermedad, en que debe ser diferenciada de muchas otras, deben practicarse pruebas diagnósticas de laboratorio. Sin embargo, no existe método alguno que sea sensible y específico.

A. Muestras

Se obtiene sangre para estudios serológicos y también se puede obtener líquido cefalorraquídeo o sinovial, pero no se recomienda cultivarlos. Las muestras mencionadas y otras pueden utilizarse para detectar DNA de *B. burgdorferi* por PCR.

B. Frotis

Se ha identificado a *B. burgdorferi* en cortes de muestras de biopsia, pero el examen de frotis teñidos constituye un método que no es sensible para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme. En ocasiones se identifica *B. burgdorferi* por medio de anticuerpos y métodos inmunohistoquímicos.

C. Cultivo

Por lo común no se practica el cultivo, porque se necesita el transcurso de seis a ocho semanas para completarlo y no posee sensibilidad.

D. Métodos de amplificación de ácido nucleico

La PCR se aplica para la detección del DNA del *B. burgdorferi* en muchos líquidos corporales. En una técnica rápida, sensible y específica, pero no permite diferenciar entre el DNA del microorganismo vivo en la etapa activa de la enfermedad, y el DNA del microorganismo muerto, en la enfermedad tratada o inactiva. Posee una sensibilidad cercana a 85% cuando se aplica a muestras del líquido sinovial, sensibilidad que es mucho menor si se utilizan muestras de CSF en individuos con neuroborreliosis.

E. Serología

Los métodos de este tipo han sido el elemento fundamental para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme, pero en 3 a 5% de personas sanas, y en las que tienen otras enfermedades (p. ej., artritis reumatoide y muchas enfermedades infecciosas) pueden ser seropositivos en EIA inicial o en métodos de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFA, *indirect fluorescent antibody assay*). Si la prevalencia de la enfermedad de Lyme es baja, como ocurre en muchas zonas geográficas, existe una posibilidad mucho mayor de que surja una reacción positiva en una persona que no tiene la enfermedad, en comparación con la persona que la tiene (valor predictivo positivo menor de 10%). Por tal razón, es importante realizar el estudio serológico en busca de enfermedad de Lyme sólo si las manifestaciones clínicas son fuertemente sugerentes. El diagnóstico no debe basarse en la positividad de pruebas EIA e IFA, en ausencia de datos clínicos sugerentes. Se recomienda una estrategia bipartita en el serodiagnóstico, es decir, practicar EIA o IFA seguido de un método de inmunotransferencia para medir la reactividad con antígenos específicos de *B. burgdorferi*.

Los métodos iniciales más utilizados para detectar enfermedad de Lyme son EIA e IFA. Comercialmente se dispone de múltiples variantes de tales técnicas, que utilizan preparados de antígenos diferentes, técnicas y puntos finales distintos. Por lo común, los resultados de las pruebas iniciales son señalados en las categorías positiva, negativa o indeterminada.

El método de inmunotransferencia por lo común se realiza para confirmar los resultados obtenidos con la técnica EIA. Los antígenos de *B. burgdorferi* obtenidos por técnicas de ingeniería genética (recombinantes) o los antígenos de células completas preparadas por lisis, son separados por medio de electroforesis, transferidos a una membrana de nitrocelulosa y colocados para reaccionar con el suero del enfermo. La interpretación de la inmunotransferencia se basa en el número y tamaño molecular de las reacciones de anticuerpos con las proteínas de *B. burgdorferi*. Es posible analizar las técnicas de inmunotransferencia en busca de IgG o IgM. Las características de las bandas de antígenos-anticuerpos (inmunocomplejo) en las técnicas de inmunotransferencia deben interpretarse por medio del cotejo con los resultados sabidos de pacientes en diversas fases de la borreliosis de Lyme, y es importante tener mucho cuidado para evitar la interpretación excesiva de manchas con reactividad mínima.

Inmunidad

La respuesta inmunitaria a *B. burgdorferi* evoluciona en forma lenta. Los sueros obtenidos en la primera etapa muestran positividad en 20 a 50% de los pacientes; los obtenidos en la segunda fase son positivos en 70 a 90%, con la identificación de IgG e IgM reactivos; en la infección de duración conocida predomina IgG. En la tercera etapa cerca de 100% de los enfermos tienen IgG reactiva con *B. burgdorferi*. La respuesta de anticuerpos se prolonga por meses o años y parece estar dirigida en forma secuencial contra algunas proteínas de *B. burgdorferi*. El tratamiento antimicrobiano oportuno disminuye la respuesta de anticuerpos. Los valores de anticuerpos disminuyen lentamente después del tratamiento, pero muchos pacientes con manifestaciones ulteriores de la enfermedad de Lyme muestran seropositividad durante años.

Tratamiento

Es importante tratar la infección temprana, local o diseminada con doxiciclina o amoxiciclina o cefuroxima axetilo durante 14 a 21 días. El tratamiento alivia los síntomas iniciales y facilita la resolución de las lesiones cutáneas. La doxiciclina puede ser más eficaz que la amoxiciclina para evitar las manifestaciones tardías. La artritis demostrada puede mejorar con la administración prolongada de doxiciclina o amoxiciclina por vía oral o penicilina G o ceftriaxona por vía endovenosa. En casos resistentes, la ceftriaxona ha sido eficaz. Prácticamente la mitad de los enfermos tratados con doxiciclina o amoxiciclina en los comienzos de la enfermedad de Lyme termina por mostrar complicaciones tardías menores (cefalea, artralgias y otras más).

Epidemiología, prevención y control

B. burgdorferi se transmite por una garrapata pequeña del género *Ixodes*. El vector es *Ixodes scapularis* (llamada también *Ixodes dammini*) en las zonas noreste y del medio este, e *Ixodes pacificus* en la costa occidental de Estados Unidos. En Europa, el vector es *Ixodes ricinus* y otras garrapatas vectoras al parecer son importantes en diversas zonas del mundo. Las garrapatas *Ixodes* son muy pequeñas y a veces el enfermo no se percata del momento en que se alimentan a través de la piel. Las larvas miden en promedio 1 mm; las ninfas tienen el tamaño de una semilla de amapola o un fragmento de pimienta triturada (~ 2 mm), y la hembra adulta, 3 a 4 mm. Todas las etapas son más pequeñas de la mitad o más de fases similares observadas con la garrapata *Dermacentor variabilis* del perro. Según la fase del desarrollo y la especie de *Ixodes,* las garrapatas deben extraer su alimento durante 2 a 4 días para obtener la sangre que necesitan. La transmisión de *B. burgdorferi* ocurre en fase tardía del proceso de alimentación. Los ratones y los venados constituyen los principales reservorios de *B. burgdorferi*, pero otros roedores y aves también pueden tener la infección. En la zona oriental de Estados Unidos, 10 a 50% de las garrapatas están infectadas, en tanto que en los estados occidentales, la cifra de infección en tales artrópodos es mucho menor, en promedio de 2 por ciento.

Gran parte de las exposiciones se producen de mayo a julio, en que la etapa de ninfa de las garrapatas muestra su mayor actividad; sin embargo, también las garrapatas en la fase larvaria (agosto y septiembre) y en la fase adulta (primavera y otoño) se alimentan de humanos y transmiten el microorganismo patógeno.

La prevención se basa en evitar la exposición a las garrapatas; se recomienda utilizar ropa con mangas largas y pantalones largos, metidos dentro de los calcetines. La revisión cuidadosa de la piel en busca de las garrapatas (después de estar a campo abierto) puede localizarlas para extirparlas antes de que transmitan *B. burgdorferi*.

La erradicación de las garrapatas en el ambiente por medio de la aplicación de insecticidas ha tenido resultados modestos para disminuir el número de ellas en etapa de ninfa, en una estación del año.

Verificación de conceptos

- Una variedad de la especie *Borrelia* causa enfermedad por lo común después de la picadura de un artrópodo o de otro vector.
- *B. recurrentis,* transmitida por el piojo del cuerpo humano, ocasiona borreliosis epidémica; la forma endémica es transmitida comúnmente por garrapatas del género *Ornithodoros*. *B. hermsii* es la causa de borreliosis en la zona occidental de Estados Unidos.
- La borreliosis se caracteriza por el incremento súbito de la temperatura, que persiste de tres a cinco días. Después de un breve lapso afebril, aparece un segundo ataque, frecuentemente causado por variantes antigénicas.
- El diagnóstico de borreliosis se corrobora mejor por la práctica de frotis de sangre finos y gruesos y tinción con colorantes de Wright o Giemsa.
- El tratamiento obliga a usar penicilina, tetraciclina o eritromicina.
- *B. burgdorferi* causa la enfermedad de Lyme y suele ser transmitida por la garrapata *Ixodes* en su etapa de ninfa.
- La enfermedad de Lyme se manifiesta en fases. El signo característico de la fase I es el eritema migratorio en el

sitio de la picadura de la garrapata. Las etapas II y III se caracterizan por artritis y manifestaciones cardiacas y neurológicas.

- El diagnóstico inicialmente depende de la práctica de EIA o IFA seguidas de un método de inmunotransferencia, para detectar la reactividad a antígenos específicos si los resultados de las primeras pruebas son positivos.
- El tratamiento depende de la etapa de la enfermedad y han sido eficaces todos los antibióticos como penicilina, doxiciclina, cefuroxima y la ceftriaxona parenteral.

LEPTOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial. Es causada por espiroquetas del género *Leptospira*.

Existe una especie patógena, *Leptospira interrogans*, pero existen más de 200 variedades serológicas de *L. interrogans*. Estas variedades serológicas se organizan en más de dos docenas de serogrupos. Los serogrupos se basan en la antigenicidad compartida y principalmente son para su uso en el laboratorio.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las leptospiras son espiroquetas finas, flexibles, con espiras muy cerradas, de 5 a 15 μm de largo, y espirales finísimas de 0.1 a 0.2 μm de ancho; uno de los extremos suele ser angulado y forma una especie de gancho. Muestran movilidad activa que se advierte mejor en la microscopia de campo oscuro. En las micrografías electrónicas se identifica un fino filamento axial y una membrana delicada. La espiroqueta es tan delicada que en la imagen de campo oscuro aparecerá sólo como una cadena de pequeñísimos cocos. No capta fácilmente los colorantes, aunque puede ser impregnada con plata.

B. Cultivo

Las leptospiras proliferan mejor en una situación aerobia a 28 a 30 °C en un medio semisólido (p. ej., Ellighausen-McCullough-Johnson-Harris, EMJH) en tubos de ensayo de 10 ml con agar al 0.1% y 5-fluorouracilo (véase también Pruebas diagnósticas de laboratorio). Después de una a dos semanas, las leptospiras producen una zona difusa de proliferación cerca de la porción superior del tubo y más tarde un anillo de crecimiento al nivel del tubo que corresponde al nivel de la presión óptima de oxígeno para los microorganismos.

C. Características de crecimiento

Las leptospiras obtienen energía de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga y no aprovechan los aminoácidos o los carbohidratos como fuentes principales de energía. Las sales de amonio constituyen la fuente principal de nitrógeno. Los microorganismos sobreviven semanas en el agua, en particular si tienen pH alcalino.

Estructura antigénica

Las principales cepas ("serovariedades") de *L. interrogans* son todas aquellas que tienen relación serológica y que muestran reactividad cruzada en pruebas serológicas.

Ello denota que existe notable traslape en su estructura antigénica, y se necesitan métodos cuantitativos y estudios de absorción de anticuerpos para llegar al diagnóstico serológico específico. La cubierta externa contiene grandes cantidades de lipopolisacáridos de estructura antigénica, que varían de una cepa a otra; dicha variación constituye la base de la clasificación serológica de las especies de *Leptospira*; también es el elemento que rige la especificidad en la respuesta inmunitaria del humano a las leptospiras.

Patogenia y manifestaciones clínicas

La infección en los seres humanos a menudo se produce por leptospiras, encontradas por lo común en cúmulos de agua, que penetran en el cuerpo a través de heridas de la piel (cortaduras y abrasiones) y de las mucosas (de la boca, la nariz y las conjuntivas). Se considera que la ingestión asume menor importancia. Después de un periodo de incubación de una a dos semanas, surge en forma variable fiebre, durante la cual aparecen las espiroquetas en la circulación sanguínea. En esta situación se establecen en órganos parenquimatosos (en particular hígado y riñones) y producen en ellos hemorragia y necrosis hística, lo cual ocasiona su disfunción (ictericia, hemorragia y retención de nitrógeno). La enfermedad suele ser bifásica. Después de la mejoría inicial surge la segunda fase en la cual aumenta el título de anticuerpos de tipo IgM. Se manifiesta por sí misma en forma de "meningitis aséptica" con cefalea intensa, rigidez de cuello y pleocitosis en el CSF. Pueden reaparecer la nefritis y la hepatitis, y haber lesiones de piel, músculos y ojos. El grado y la distribución del ataque de órganos varía en las diferentes enfermedades que producen las leptospiras distintas, en diversas zonas del mundo. Muchas infecciones son poco intensas o subclínicas. La hepatitis es frecuente en individuos con leptospirosis.

La afección de los riñones en muchas especies animales es crónica y en consecuencia ocurre la expulsión de gran número de leptospiras en la orina; probablemente ello sea el origen de la contaminación ambiental que origina infección de los seres humanos. La orina de humanos también puede contener espiroquetas, en la segunda y la tercera semanas de la enfermedad.

Durante la infección aparecen anticuerpos aglutinantes, fijadores de complemento y líticos. El suero de pacientes convalecientes protege a animales de experimentación contra una infección que en otras circunstancias sería letal. La inmunidad que resulta de la infección en seres humanos y en animales al parecer muestra especificidad de serovariedades.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden sangre obtenida por técnicas asépticas en tubos con heparina, CSF o tejidos para el estudio microscópico y cultivo. La orina se obtiene con gran cuidado para no contaminarla. El suero se recolecta para hacer pruebas de aglutinación.

B. Examen microscópico

En ocasiones, en el examen con campo oscuro o frotis gruesos teñidos con la técnica de Giemsa se identifican leptospiras en

sangre recién obtenida, de infecciones incipientes. Los resultados del estudio hecho con campo oscuro, de orina centrifugada, también pueden arrojar resultados positivos. Cabe recurrir también a los anticuerpos conjugados con fluoresceína o a otras técnicas inmunohistoquímicas.

C. Cultivo

Es posible cultivar el microorganismo en un medio semisólido, sangre completa u orina recién obtenidas. Existen sustancias inhibitorias en la sangre y por ello se coloca solamente una o dos gotas en cada uno de los cinco tubos que contienen 5 o 10 ml del medio de laboratorio. Es posible utilizar incluso 0.5 ml de CSF. Se coloca una gota de la orina sin diluir y otra gota de la orina diluida en forma seriada 10 veces, hasta un total de cuatro tubos. Es importante triturar y utilizar como inóculo tejido que tenga en promedio 5 mm de diámetro. La proliferación es lenta y hay que conservar los cultivos durante ocho semanas, como mínimo.

D. Serología

El diagnóstico de leptospirosis en muchos casos se confirma por métodos serológicos. Los anticuerpos aglutinantes aparecen en primer lugar cinco a siete días después de la infección y poco a poco llegan a un punto máximo a las cinco a ocho semanas. Es posible detectar títulos altos (por arriba de 1:10 000). La norma de los laboratorios especializados para detectar anticuerpos de leptospiras utiliza la aglutinación microscópica de microorganismos vivos, procedimiento que puede ser peligroso. El método es muy sensible, pero difícil de estandarizar; el punto final sería la aglutinación al 50%, difícil de determinar. La aglutinación de las suspensiones de microorganismos vivos es muy específica para la serovariedad de las leptospiras infectantes. Las pruebas de aglutinación por lo común sólo se realizan en laboratorios especializados. Pueden confirmar el diagnóstico los sueros en pares que señalan un cambio significativo de su valor, o un solo suero con un alto valor de aglutininas, y además un cuadro clinicopatológico compatible. Ante la dificultad de practicar las pruebas de aglutinación definitivas, se han creado otras más que se usan preferentemente para detección.

Inmunidad

Después de la infección persiste la inmunidad específica de las variedades serológicas, pero a veces hay reinfección con otras serovariedades.

Tratamiento

El tratamiento de la leptospirosis benigna debe incluir doxiciclina, ampicilina o amoxiciclina por vía oral. El de la enfermedad moderada o grave debe incluir penicilina o ampicilina por vía endovenosa.

Epidemiología, prevención y control

Las leptospirosis son esencialmente infecciones de animales; el hombre las contrae sólo de manera accidental después del contacto con agua y otros materiales contaminados con las excreta de animales hospedadores. La infección de seres humanos procede principalmente de ratas, ratones, roedores salvajes, perros, cerdos y ganado bovino, pues excretan leptospiras en la orina durante la fase de enfermedad activa y en la de portador asintomático. Los microorganismos quedan viables en agua estancada, durante semanas, y la persona que beba, nade, se bañe o consuma alimentos contaminados puede infectarse. Los individuos que están más a menudo en contacto con el agua contaminada por ratas (mineros, trabajadores de alcantarillas, agricultores y pescadores) están expuestos a un mayor peligro de infección. Los niños se contagian por perros, con mayor frecuencia que los adultos. El control consiste en evitar la exposición al agua que puede estar contaminada, y disminuir la contaminación, por eliminación de roedores. La profilaxia eficaz se logra con la ingestión de 200 mg de doxiciclina una vez por semana durante fases de exposición intensa. A los perros se les puede aplicar vacunas contra el moquillo-hepatitis-leptospirosis.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 28 años con embarazo de 10 semanas, acude a la clínica de obstetricia para sus cuidados prenatales. Tiene el antecedente de que siete años antes fue tratada de sífilis. Los resultados de sus pruebas serológicas de sífilis son: prueba no treponémica, RPR no reactiva; prueba treponémica (TP-PA), reactiva. De los planteamientos siguientes: ¿cuál es el más acertado?
   (A) El tratamiento previo de la sífilis fue eficaz
   (B) El producto está expuesto a un gran riesgo de presentar sífilis congénita
   (C) La madre necesita repetir el tratamiento contra la sífilis
   (D) La madre necesita ser sometida a punción lumbar y que en el líquido cefalorraquídeo se practique la prueba de VDRL para identificar neurosífilis.
2. Un niño explorador de 12 años de edad acudió a un campamento de verano por dos semanas a finales de agosto en un sitio ubicado justo en las afueras de la ciudad Mystique, Connecticut. Al regresar a su hogar, la madre detectó lesiones cutáneas en forma de diana en la espalda y en la pantorrilla izquierda de su hijo. Poco después el niño desarrolló un cuadro seudogripal que se resolvió después de cuatro días de reposo en cama. Tres semanas más tarde el niño refirió a su madre que tenía mialgias y artralgias ante cualquier movimiento. El niño fue llevado al pediatra quien solicitó estudio diagnóstico en busca de enfermedades infecciosas. ¿Cuál es la causa más probable de la enfermedad del niño?
   (A) Infección respiratoria transmitida por otro niño enfermo
   (B) Ingestión de agua contaminada con orina
   (C) La picadura del mosquito que transmite un parásito
   (D) Ingestión de alimentos expuestos a contaminación fecal
   (E) la picadura de una garrapata infectada con espiroquetas
3. Las pruebas serológicas no treponémicas:
   (A) Son útiles para identificar de manera definitiva la infección por *Treponema pallidum*.
   (B) Miden los anticuerpos contra *Treponema pallidum*.
   (C) Puede utilizarse para vigilar el tratamiento con antibióticos de sífilis primaria o secundaria.
   (D) Miden los anticuerpos contra lípidos liberados de las células lesionadas.
   (E) Son útiles para diagnosticar infección gonocócica diseminada.

4. Una mujer de 42 años regresó de acampar en las montañas de Sierra Nevada; ahí durmió dos noches en una cabaña de troncos abandonada. Después de la segunda noche, descubrió una garrapata en su hombro. Seis días más tarde presentó fiebre de 38 °C que duró cuatro días. Diez días más tarde tuvo otro episodio de fiebre. El estudio de sangre en frotis teñido con colorante de Wright indicó la presencia de espiroquetas, similares a *Borrelia*. ¿Cuál de los planteamientos siguientes en cuanto a la borreliosis y *Borrelia hermsii* es correcto?
   (A) Cada recidiva depende de una variante antigénicamente distinta.
   (B) Es importante practicar frotis de sangre cuando la mujer esté afebril.
   (C) Las borrelias no tienen transmisión transovárica de una generación a la siguiente en las garrapatas.
   (D) Los principales reservorios de *Borrelia* son el ciervo o los venados.
   (E) *Borrelia* es resistente a la penicilina y la tetraciclina.
5. Un varón de 23 años acudió al médico con maculopápulas en gran parte del tronco pero no en la boca, ni en las palmas, o las manos. En el diagnóstico diferencial se consideró la posibilidad de sífilis secundaria, razón por la cual se practicó una prueba RPR, que fue positiva en dilución de 1:2. Sin embargo, la prueba TP-PA fue negativa. De las enfermedades siguientes: ¿cuál debe descartarse?
   (A) Sífilis secundaria
   (B) Sarampión atípico
   (C) Infección por virus Coxsackie
   (D) Infección aguda por VIH 1
   (E) Reacción alérgica a fármacos
6. De los siguientes animales: ¿cuál es la fuente de *Leptospira interrogans?*
   (A) Lagartos
   (B) Patos
   (C) Ranas
   (D) Pez gato
   (E) Cerdos
7. Un residente médico de 27 años fue hospitalizado por fiebre de 39 °C y cefalea, ambas de inicio repentino. Dos semanas antes estuvo de vacaciones en zonas rurales de Oregon, donde nadó frecuentemente en un canal de riego, que bordeaba tierras en que pastaban vacas. Las pruebas hemáticas practicadas poco después de la hospitalización señalaron anormalidades de la función renal e incremento del nivel de bilirrubina y de las cifras de otras pruebas de función hepática. Se obtuvieron resultados negativos de los cultivos corrientes de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo. Se planteó la sospecha de leptospirosis. De los estudios siguientes, ¿cuáles confirmarían el diagnóstico con mayor probabilidad?
   (A) Estudio de los sueros de fase aguda y de convalecencia, por medio de la prueba RPR
   (B) Cultivo de orina en fibroblastos diploides de humanos
   (C) Estudio del suero en campo oscuro en busca de leptospiras
   (D) Estudio de sueros de fase aguda y de convalecencia en busca de anticuerpos contra leptospiras
   (E) Cultivo de líquido cefalorraquídeo en agar con sangre y chocolate
   (F) Tinción de Gram de líquido cefalorraquídeo y sangre
8. Un varón de 47 años acude al médico por artritis de evolución lenta de las rodillas. Disfruta practicar caminatas en las zonas costeras del norte de California, donde la prevalencia de *Borrelia burgdorferi* en las garrapatas *Ixodes* es de 1 a 3% (considerada una cifra pequeña). El paciente se muestra preocupado por la posibilidad de tener la enfermedad de Lyme. Nunca se percató de que alguna garrapata se adhiriera a su cuerpo ni se identificó alguna erupción roja en expansión. Se observa positividad en EIA correspondiente a la borreliosis de Lyme. ¿Qué medidas deben adoptarse en este momento?
   (A) Obtener una muestra de biopsia de la membrana sinovial de articulación de la rodilla y buscar en ella *Borrelia burgdorferi*.
   (B) Administración de antibióticos para tratar la enfermedad de Lyme.
   (C) Realización de PCR en el plasma del paciente, para detectar *Borrelia burgdorferi*.
   (D) Es necesario enviar una muestra de suero a un laboratorio que practique inmunotransferencia, para detectar anticuerpos que reaccionen a antígenos de *Borrelia burgdorferi*.
   (E) Cultivo de líquido sinovial en agar con chocolate y con sangre.
9. De los microorganismos siguientes: ¿cuál infecta predominantemente el hígado y los riñones?
   (A) *Leptospira interrogans*
   (B) *Staphylococcus aureus*
   (C) *Escherichia coli*
   (D) *Enterococcus faecalis*
   (E) *Treponema pallidum*
10. Las afirmaciones siguientes respecto a la borreliosis son correctas, *excepto*
   (A) La enfermedad epidémica conlleva una cifra mayor de mortalidad que la endémica.
   (B) La enfermedad endémica en Estados Unidos es causada por *B. recurrentis*.
   (C) Los episodios febriles recurrentes son causados por la variación antigénica de una espiroqueta a otra.
   (D) La penicilina es el fármaco más indicado
   (E) El aplastamiento de la garrapata puede hacer que se dispersen y transmitan las espiroquetas

Respuestas

1. A	5. A	9. A
2. E	6. E	10. B
3. D	7. D	
4. A	8. D	

BIBLIOGRAFÍA

Centers for Disease Control and Prevention: Discordant results from reverse sequence syphilis screening—Five laboratories, United States, 2006-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:133-137.

Hook EW III: Endemic treponematoses. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Levett PN: *Leptospira*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Levett PN, Hakke DA: *Leptospira* species (Leptospirosis). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Radolf JD, Pillay A, Cox DL: *Treponema* and *Brachyspira*, human host-associated spirochetes. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Rhee KY, Johnson WD Jr: *Borrelia* species (relapsing fever). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Schriefer ME: *Borrelia*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Seña AC, White BL, Sparling PF: Novel *Treponema pallidum* serologic tests: A paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700-708.

Steere AC: *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease, Lyme borreliosis). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Tramont EC: *Treponema pallidum* (syphilis). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN, *et al.*: Leptospirosis: An emerging global public health problem. *J Biosci* 2008;33:557-569.

CAPÍTULO

25

Micoplasmas y bacterias con pared defectuosa

MICOPLASMAS

Se han identificado más de 200 especies de bacterias Mollicutes (bacterias sin pared celular). Como mínimo, 16 de ellas, según expertos, son de origen humano, en tanto que otras se han aislado de animales y plantas. En los seres humanos, cuatro especies son de importancia principal: *Mycoplasma pneumoniae* causa neumonía y se le ha vinculado con infecciones articulares y de otros sitios. *Mycoplasma hominis* a veces causa fiebre puerperal y se le ha identificado junto con otras bacterias en infecciones de trompas uterinas. *Ureaplasma urealyticum* es causa de uretritis no gonocócica en varones y puede ocasionar neumopatías en prematuros de bajo peso. *Mycoplasma genitalium* está relacionada estrechamente con *M. pneumoniae* y se ha dicho que causa infecciones uretrales y de otro tipo. Otros miembros del género *Mycoplasma* son patógenos del aparato respiratorio y urogenital, además de articulaciones de animales.

M. genitalium, que entre los micoplasmas es el de genoma más pequeño, tiene, en promedio, un poco más del doble del tamaño del genoma de algunos grandes virus. Los micoplasmas son los microorganismos de menor tamaño que pueden vivir libres en la naturaleza y replicarse por sí mismos en medios de laboratorio. Poseen las características siguientes: 1) los más pequeños tienen 125 a 250 nm de tamaño; 2) son muy pleomórficos porque no tienen una pared rígida y en su lugar están circundados por una "membrana unitaria" trilaminar que contiene un esterol (se necesita la adición de suero o colesterol a medios de cultivo para que los micoplasmas generen esteroles y proliferen); 3) los micoplasmas son absolutamente resistentes a la penicilina porque no tienen estructuras de la pared en las cuales actúe dicho antibiótico, pero son inhibidos por tetraciclinas o eritromicina; 4) los micoplasmas se reproducen en medios acelulares; en el agar, el centro de toda la colonia está situado de manera característica por debajo de la superficie; 5) la proliferación de micoplasmas es inhibida por anticuerpos específicos; y 6) los micoplasmas muestran afinidad por membranas de células de mamíferos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Es imposible estudiar los micoplasmas por los métodos bacteriológicos usuales, por lo pequeño de sus colonias, y la plasticidad y fragilidad de sus células individuales. La proliferación en medios líquidos da origen a formas diferentes; la que ocurre en medios sólidos consiste más bien de masas protoplásmicas de contornos indefinidos que fácilmente se deforman. El tamaño de dichas estructuras es muy variable y va de 50 a 300 nm de diámetro. Su morfología es diferente, de acuerdo al método de estudio (campo oscuro, inmunofluorescencia, frotis teñidos con colorante de Giemsa para medios sólidos o líquidos y fijación en agar).

B. Cultivo

El cultivo de micoplasmas patógenos para los humanos obliga a usar medios con suero, un sustrato metabólico como la glucosa o la urea, y factores de crecimiento como el extracto de levadura. No existe un solo medio óptimo para todas las especies porque muestran propiedades y necesidades de sustrato diferentes. Después de incubación a 37 °C durante 48 a 96 h posiblemente no haya enturbiamiento en caldos de cultivo; sin embargo, en las tinciones con Giemsa del sedimento centrifugado se identifican las estructuras pleomórficas características, y el subcultivo en un medio sólido permite el crecimiento de colonias muy pequeñas.

Después de dos a seis días en el medio bifásico (caldo sobre agar) y el agar incubados en una caja de Petri sellada para evitar la evaporación, se detectan colonias aisladas que miden 20 a 500 μm con una lupa de mano. Estas colonias son redondas, con una superficie granulosa y un centro oscuro típicamente enterrado en el agar. Se les puede subcultivar al seccionar un cuadrado pequeño de agar que contenga una o más colonias y sembrar dicho material en una placa reciente, o vaciarlo en goteo al medio líquido.

C. Características de crecimiento

Los micoplasmas son únicos en la microbiología porque 1) carecen de pared celular; 2) tienen un tamaño extremadamente pequeño y 3) crecen en medios de cultivo complejos pero acelulares.

Los micoplasmas pasan a través de filtros con poros de 450 nm y por lo tanto son comparables con clamidias o con virus grandes. Sin embargo, los micoplasmas parasitarios crecen en medios de cultivo que contienen lipoproteínas y esteroles. Estos requerimientos de esteroles para el crecimiento y para la síntesis de membrana son singulares.

Muchos micoplasmas utilizan la glucosa como fuente de energía; los ureaplasmas requieren urea.

Algunos micoplasmas humanos producen peróxidos y causan hemólisis eritrocítica. En cultivos celulares e *in vivo* se observan los micoplasmas de manera predominante en las superficies celulares. Muchas líneas de cultivo establecidas en células humanas y de animales portan micoplasmas

apter 25_Carroll_4R.indd 335 14/04/16

como contaminantes; a menudo los micoplasmas también son intracelulares.

D. Variación

El pleomorfismo extremo de los micoplasmas es una de sus principales características.

Estructura antigénica

Pueden identificarse al menos 16 especies diferentes desde el punto de vista antigénico en seres humanos, lo que incluye *M. hominis, M. pneumoniae, M. genitalium* y *U. urealyticum*. La mayor parte de bacterias del género micoplasma tienen sistemas muy evolucionados para variaciones de antígenos de la membrana externa, presumiblemente para evadir la respuesta inmunitaria del hospedador durante infecciones.

Las especies se clasifican con base en características bioquímicas y serológicas. Los antígenos de los micoplasmas que fijan complemento (CF, *complement fixation*) son glucolípidos; los que se utilizan en métodos de enzimoinmunoanálisis son proteínas. Algunas especies poseen varios serotipos.

Patogenia

Muchos micoplasmas patógenos tienen formas similares a botellas de laboratorio o filamentosas y poseen estructuras polares especializadas que median su adhesión a las células del hospedador. Dichas estructuras constituyen un grupo complejo de proteínas interactivas, adhesinas (p. ej., la adhesina P1 de *M. pneumoniae* y la adhesina MgPa de *M. genitalium*) y proteínas accesorias para la adhesión. Las proteínas en cuestión poseen abundante prolina, que influye en el plegado y la unión proteínica, y son importantes en la adhesión a las células. Los micoplasmas se adhieren a la superficie de células ciliadas y no ciliadas, probablemente por medio de sialoglucoconjugados de mucosas y de glucolípidos sulfatados. Algunos micoplasmas no tienen las estructuras características de los extremos, pero utilizan adhesinas proteínicas, o tienen otros mecanismos para adherirse a las células de hospedadores. No se conocen en detalle los fenómenos ulteriores en el caso de infecciones, pero pudieran incluir los siguientes: citotoxicidad directa por medio de la generación de peróxido de hidrógeno y radicales superóxido; citólisis mediada por reacciones de antígeno-anticuerpo (inmunocomplejo) o por quimiotaxis y acción de mononucleares, y competencia por nutrientes hasta agotarlos.

Infección por micoplasmas

Se han cultivado micoplasmas de las mucosas y tejidos de humanos, en particular del aparato genitourinario, y respiratorio. Son parte de la microflora habitual de la boca y se puede hacerlos crecer a partir de muestras de saliva, mucosa de la boca, esputo y tejido amigdalino normales. *M. hominis* es detectado en la orofaringe en menos de 5% de los adultos; *M. pneumoniae* en dicho sitio por lo común ocasiona enfermedad (véase adelante).

Algunos micoplasmas se localizan en el aparato genitourinario, en particular en mujeres. En ambos sexos, el estado de portador genital de micoplasmas guarda relación directa con el número de compañeros sexuales durante toda la vida. *M. hominis* se cultiva a partir de muestras de 1 a 5% de varones asintomáticos y en 30 a 70% de mujeres sin síntomas; tales cifras aumentan a 20% y más de 90% de positividad en varones y mujeres, respectivamente en clínicas que atienden personas con enfermedades de transmisión sexual. *U. urealyticum* se localiza en el aparato genital de 5 a 20% de varones sexualmente activos y en 40 a 80% de mujeres con esa misma característica. En promedio, 10% de mujeres que acuden a clínicas para la atención de enfermedades de transmisión sexual tienen *M. genitalium* en la zona inferior de su aparato genital. La presencia de *M. genitalium* en la uretra masculina típicamente se asocia con enfermedad, un síndrome conocido como uretritis no gonocócica. En esa zona también se identifican otros micoplasmas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden material faríngeo obtenido por aplicadores, de esputo, exudados inflamatorios y secreciones de vías respiratorias, uretra o genitales.

B. Examen microscópico

No es útil el examen directo de una muestra en busca de micoplasmas. Los cultivos se practican como se describió antes.

C. Cultivos

El material es inoculado en caldo y medios sólidos especiales según el microorganismo a identificar. Los medios de agar se incuban mejor a 37 °C con un entorno de 5 a 10% de CO_2 (en un entorno microaerófilo o incluso anaerobio). Los caldos de cultivo deben ser incubados a 37 °C en un entorno atmosférico (aerobio). La duración de la incubación varía de dos a cuatro días en el caso de microorganismos como *M. hominis* y *U. urealyticum*, hasta llegar incluso a cuatro semanas en el caso de *M. pneumoniae*.

Se necesitan una o dos transferencias de medios antes de que se advierta la proliferación idónea para el estudio microscópico por medio de tinción o inmunofluorescencia. Las colonias de *M. hominis* pueden tener el típico aspecto de "huevo frito" en el agar, pero las de *M. pneumoniae* y *M. genitalium* son menores y tal vez carezcan de la típica apariencia.

Las muestras en que se intenta diagnosticar la presencia de especies de *Ureaplasma* por lo común son inoculadas en caldo o medio de agar (p. ej., agar A8) que contienen urea. La proliferación se manifiesta por cambios colorimétricos que denotan hidrólisis de la urea.

D. Serología

En los seres humanos infectados por micoplasmas surgen anticuerpos que se demuestran por varios métodos. Se realizan estudios de CF con los antígenos glucolípidos extraídos con cloroformo-metanol, de micoplasmas cultivados. Si se usan métodos CF se advierte reactividad serológica cruzada entre *M. pneumoniae* y *M. genitalium*. Las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación se aplican a eritrocitos marcados con tanino y con antígenos de *Mycoplasma* adsorbidos. Puede utilizarse la inmunofluorescencia indirecta. El método que mide la inhibición de la proliferación por acción de un anticuerpo es muy específico. En casi todos los laboratorios se practican

enzimoinmunoanálisis (EIA, *enzyme immunoassays*), pero su sensibilidad y especificidad son muy variables, y dependen de la técnica usada. En términos generales, se considera mejor EIA que CF. Con todas las técnicas serológicas de este tipo, se cuenta con especificidad adecuada en relación con diferentes especies de *Mycoplasma* en humanos, pero se necesita que el valor de anticuerpos sea cada vez mayor para que adquiera importancia diagnóstica, ante la elevada incidencia de resultados positivos de métodos serológicos en personas sanas.

E. Métodos de amplificación de ácido nucleico

En muchos laboratorios especializados se practican métodos moleculares para la detección de micoplasmas y ureaplasmas de humanos, y se han publicado diversos métodos con cebadores y sondas. En Estados Unidos la *Food and Drug Administration* ha aprobado muy pocos métodos de este tipo, aunque están en fase de estudio muchas plataformas, y tal situación quizá mejore. Las pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT, *nucleic acid amplification tests*) son particularmente útiles en el caso de microorganismos difíciles de cultivar como *M. pneumoniae* y *M. genitalium* y son menos útiles en el caso de los microorganismos de proliferación más rápida. Surgen dificultades cuando se obtienen resultados positivos en estos métodos, y no se cuenta con resultados clínicos o de otros métodos diagnósticos positivos. Actualmente, las técnicas en cuestión se usan mejor en combinación con otros métodos diagnósticos tradicionales como los serológicos, hasta que se pueda contar con más datos clínicos.

Tratamiento

Muchas cepas de micoplasmas son inhibidas por diversos antimicrobianos, pero otras más son resistentes a penicilinas, cefalosporinas y vancomicina. Las tetraciclinas y la eritromicina son eficaces *in vitro* e *in vivo* y, en la actualidad, son los fármacos más indicados en caso de neumonía por micoplasma. Algunas ureaplasmas son resistentes a la tetraciclina. El tratamiento de la uretritis por *M. genitalium* en varones típicamente es con una dosis de azitromicina administrada en la clínica. Esto asegura el apego terapéutico y reduce la probabilidad de transmisión sexual a otras parejas sexuales.

Epidemiología, prevención y control

M. pneumoniae se comporta como un virus patógeno contagioso de las vías respiratorias (véase discusión más adelante), y es capaz de causar infecciones endémicas y epidémicas. Los micoplasmas y el ureaplasma en genitales se propagan por contacto genital o bucogenital y también se pueden transmitir junto con otros patógenos de transmisión sexual. Las prácticas sexuales seguras deben reducir su diseminación. No se cuenta con vacunas para proteger a pacientes del ataque de tales microorganismos.

MYCOPLASMA PNEUMONIAE Y NEUMONÍAS ATÍPICAS

M. pneumoniae es causa importante de neumonía, en particular en personas de cinco a 20 años de edad.



FIGURA 25-1 Micrografía electrónica de *Mycoplasma pneumoniae* fijado a células ciliadas del epitelio de vías respiratorias en una muestra de esputo en una persona con neumonía por dicho microorganismo, comprobada en cultivo. Los microorganismos se detectan en el borde luminal, fijados entre los cilos . (Por cortesía de AM Collier, Departament of Pediatrics, University of North Carolina.)

Patogenia

M. pneumoniae es transmitida entre personas por medio de secreciones infectadas del aparato respiratorio. La infección comienza al fijar el extremo del microorganismo a un receptor en la superficie de las células del epitelio respiratorio (figura 25-1). La fijación es mediada por una adhesina que es una proteína específica, en la estructura terminal diferenciada del microorganismo. Durante la infección, los micoplasmas permanecen fuera de las células.

Manifestaciones clínicas

La neumonía por micoplasmas generalmente es de poca intensidad y benigna. El aspecto clínico de la infección por dicho germen varía desde un estado asintomático hasta neumonitis grave, con ataque ocasional del sistema nervioso y la sangre (como anemia hemolítica) y diversas lesiones cutáneas posibles. La miringitis ampollosa aparece en casos espontáneos y en voluntarios inoculados en forma experimental.

El periodo de incubación varía de una a tres semanas. El comienzo por lo común es insidioso y la persona muestra malestar general, fiebre, cefalea, faringitis y tos. En el comienzo, la tos no es productiva, pero a veces es paroxística; más adelante el esputo es hemoptoico y hay dolor torácico. En el inicio de la evolución, el ataque general es moderado y suelen ser poco intensos los signos físicos de consolidación pulmonar, en comparación con la consolidación extraordinaria que se identifica en las radiografías. Más adelante, cuando la infiltración llega a su máximo, la enfermedad puede ser grave. Lentamente en el curso de una a cuatro semanas el infiltrado pulmonar muestra resolución y hay mejoría clínica. La evolución del trastorno es muy variable, pero muy pocas veces el paciente muere, situación que suele ser atribuible a insuficiencia cardiaca. Las complicaciones son poco comunes, pero a veces surge anemia

hemolítica. Los hallazgos histopatológicos más comunes en casos complicados son afección intersticial con neumonitis peribronquial y bronquiolitis necrosante. Otros trastornos que quizá provengan del ataque de *M. pneumoniae* incluyen eritema multiforme; afección del sistema nervioso central que incluye meningitis, meningoencefalitis y mononeuritis y polineuritis; y otros como miocarditis, pericarditis, artritis y pancreatitis.

Causas frecuentes de neumonía bacteriana extrahospitalaria, además de *M. pneumoniae,* comprenden *Streptococus pneumoniae, Legionella pneumophila, Chlamydia pneumoniae,* y *Haemophilus influenzae.* El cuadro inicial de dichas infecciones es muy semejante y es importante identificar signos y síntomas sutiles. Es necesario conocer el agente casual por estudio y cultivo del esputo, hemocultivo y otros métodos.

Pruebas de laboratorio

El diagnóstico de neumonía por *M. pneumoniae* se hace en gran medida por la identificación clínica del síndrome; al respecto, los métodos de laboratorio tienen utilidad secundaria. Puede haber incremento leve del número de leucocitos. La tinción de Gram en esputo es de utilidad sólo para identificar patógenos bacterianos diferentes al micoplasma (p. ej., *S. pneumoniae*). Los micoplasmas causales se identifican por cultivo en material de la faringe y del esputo, pero la prueba mencionada es muy especializada y casi nunca se practica para el diagnóstico de la infección por *M. pneumoniae*. En casi la mitad de los enfermos no tratados surgen criohemaglutininas para eritrocitos humanos del grupo O, en valores cada vez mayores, y la cifra máxima se alcanza en la tercera o la cuarta semanas después del comienzo. Detectar un valor de 1:64 o más es un dato que refuerza el diagnóstico de infección por *M. pneumoniae.* Se observa el incremento en el valor de anticuerpos específicos contra *M. pneumoniae*, que es demostrable por fijación de complemento; se necesitan sueros de fase aguda y de convalecencia para corroborar un aumento cuádruple en el título de anticuerpos detectados por fijación de complemento. EIA para detectar inmunoglobulina M (IgM) y anticuerpos IgG es muy sensible y específica, y se considera más sensible que los métodos de fijación de complemento. Se puede confirmar el diagnóstico por medio de la reacción en cadena de polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) de muestras obtenidas con aplicador en la faringe u otro material clínico (véase antes).

Tratamiento

Con las tetraciclinas, macrólidos o fluoroquinolonas se logra mejoría clínica pero no erradican *M. pneumoniae,* tal vez por la habilidad del microorganismo para residir tanto dentro como fuera de las células.

Epidemiología, prevención y control

Las infecciones por *M. pneumoniae* son endémicas en todo el mundo. En poblaciones de niños y adultos jóvenes en que prevalece el contacto muy cercano y en familias, la cifra de infección puede ser grande (50 a 90%), pero la incidencia de neumonitis es variable (3 a 30%). Por cada caso de neumonitis franca existen otros más de cuadros respiratorios más benignos. Al parecer *M. pneumoniae* se transmite de manera predominante por contacto directo en que participan secreciones de vías respiratorias. Los segundos ataques son poco frecuentes. La presencia de anticuerpos contra *M. pneumoniae* se ha vinculado con resistencia a la infección, pero quizá no sea la causa de ella. Se observan reacciones inmunitarias de tipo celular. El cuadro neumónico puede atribuirse en parte a una respuesta inmunológica y no sólo a la infección.

MYCOPLASMA HOMINIS

M. hominis se ha relacionado con diversas enfermedades, pero sólo en unas cuantas de ellas constituye su causa demostrada. Las pruebas de que existe una relación causal se obtienen de estudios de cultivos y serológicos. *M. hominis* se puede cultivar de muestra proveniente de la porción superior del aparato urinario en casi 10% de sujetos con pielonefritis; este microorganismo se encuentra estrechamente vinculado con la infección de las trompas uterinas (salpingitis) y con la aparición de abscesos tuboováricos; es posible aislarlo de las trompas en 10%, aproximadamente, de las pacientes con salpingitis, pero no de mujeres sin signos de la enfermedad. Más a menudo las mujeres con salpingitis generan anticuerpos contra *M. hominis* en comparación con aquéllas que no tienen la enfermedad. Se ha aislado *M. hominis* de la sangre de casi 10% de las mujeres que muestran fiebre después de aborto o parto y en ocasiones en cultivos del líquido sinovial de pacientes con artritis.

UREAPLASMA UREALYTICUM

Diversas enfermedades se atribuyen al ataque de *U. urealyticum*, a semejanza de *M. hominis*, pero sólo en unas cuantas ha sido causa demostrable. *U. urealyticum,* que necesita 10% de urea para proliferar, ocasiona uretritis no gonocócica ni clamidiósica en varones. Datos recientes indican que la uretritis está relacionada con biovariedad 2 y no biovariedad 1 (*Ureaplasma parvum*). *U. urealyticum* es frecuente en el aparato genital de la mujer, sitio en que es poco importante el vínculo con enfermedades. Se ha dicho que *U. urealyticum* causa enfermedades pulmonares en prematuros de bajo peso natal que se contagiaron del microorganismo al nacer, pero no se ha demostrado claramente un efecto causal. Sin embargo, en un recién nacido sintomático con anormalidades pulmonares en el estudio radiográfico y sin otra causa aparente de neumonía, el tratamiento contra especies de *Ureaplasma* y *M. hominis* al parecer está justificado. Las pruebas de que *U. urealyticum* causa esterilidad involuntaria son apenas suficientes, en el mejor de los casos.

MYCOPLASMA GENITALIUM

M. genitalium fue aislado originalmente de cultivos de material uretral de dos varones con uretritis no gonocócica, pero es difícil cultivarlo, y las observaciones ulteriores se han basado en datos obtenidos por medio de NAAT y métodos serológicos. Los datos sugieren que *M. genitalium* en varones ocasiona algunos casos de uretritis no gonocócica aguda y otros de la forma crónica. En las mujeres, *M. genitalium* se ha relacionado con diversas infecciones como cervicitis, endometritis, salpingitis y esterilidad.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los principales patógenos de importancia clínica incluyen *M. pneumoniae,* causa de infecciones endémicas y epidémicas del aparato respiratorio, y los micoplasmas urogenitales *M. hominis, M. genitalium* y *U. urealyticum*.
- Es posible cultivar con facilidad *M. hominis* y *U. urealyticum* porque proliferan con rapidez y las condiciones son menos estrictas para el cultivo; *M. genitalium* y *M. pneumoniae* necesitan un periodo más largo de incubación.
- *M. pneumoniae* es una causa importante de neumonía extrahospitalaria. La infección sigue un curso insidioso y por lo regular tardío. El diagnóstico clínico es mejor y se confirma por medio de estudios serológicos (incremento de cuatro veces en las concentraciones de IgG o IgM), por medio de NAAT, o por ambos métodos.
- Los micoplasmas urogenitales se han relacionado con uretritis no gonocócica ni por clamidia en varones, (*U. urealyticum*). *M. hominis* y *U. urealyticum* pueden causar fiebre puerperal e infecciones del aparato respiratorio en prematuros. *M. hominis* muestra mayor prevalencia en mujeres con vaginosis bacteriana que en mujeres sanas.
- Las infecciones por *Mycoplasma* y *Ureaplasma* no mejoran con antibióticos lactámicos β. Los fármacos más indicados son tetraciclinas, macrólidos y quinolonas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. *Ureplasma urealyticum* recibió tal nombre porque
   (A) Prolifera abundantemente en la zona superior del aparato urinario.
   (B) Necesita de la urea como sustrato para proliferar.
   (C) Es causa frecuente de infecciones sintomáticas de la vejiga en mujeres jóvenes.
   (D) Causa infecciones crónicas del aparato urinario en prematuros, hijos de madres con ureaplasmas como parte de su microflora genital.
2. Una mujer de 18 años sexualmente activa presenta dolor del cuadrante inferior izquierdo y fiebre. En el tacto ginecológico se advierte dolor a la palpación del anexo izquierdo y se palpa una masa que sugiere un absceso en la trompa uterina. Se hace el diagnóstico de enfermedad inflamatoria pélvica. ¿Cuál de las siguientes bacterias es considerada como causa frecuente de la enfermedad mencionada?
   (A) *Bacillus cereus*
   (B) *Haemophilus influenzae*
   (C) *Neisseria subflava*
   (D) *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) *Chlamydia trachomatis*
3. De los factores siguientes: ¿cuál es importante en la patogenia de infecciones por micoplasmas?
   (A) El peptidoglucano de la pared del micoplasma
   (B) La presencia de lacto-*N*-neotetraosa, con una galactosamina terminal como receptor de las células del hospedador
   (C) Las estructuras y las proteínas interactivas que median la adhesión a células del hospedador
   (D) La ausencia de cilios en la superficie de las células del hospedador
   (E) La abundancia en un sitio anatómico en el que proliferan microorganismos anaerobios
4. Una mujer de 25 años es enviada a una clínica de atención de enfermedades de transmisión sexual, debido al contacto con un compañero con gonorrea. La mujer tuvo 15 compañeros (varones) sexuales desde que comenzó su vida sexual activa. La posibilidad de que también tenga una infección por *Mycoplasma hominis* en genitales es de
   (A) 1%
   (B) 5%
   (C) 15%
   (D) 40%
   (E) 90%
5. Un estudiante de medicina de 25 años tuvo contacto con un paciente que tenía neumonía, con fiebre y tos. Cuatro días más tarde, el estudiante presentó fiebre y tos, y en las radiografías de tórax se identificó consolidación del lóbulo inferior derecho. En los cultivos sintomáticos de esputo en busca de bacterias, éstas no se detectaron. Se pensó en la neumonía causada por *Mycoplasma pneumoniae*. Todos los métodos siguientes se usan para confirmar la sospecha clínica, *excepto*
   (A) Amplificación del DNA de *Mycoplasma pneumoniae* en esputo por reacción en cadena de polimerasa
   (B) Cultivo de esputo en busca de *Mycoplasma pneumoniae*
   (C) Tinción de Gram de un frotis de esputo
   (D) Cultivo de material pulmonar obtenido por aspiración, para detectar *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) Enzimoinmunoanálisis (EIA) de sueros de fase aguda y de convalecencia
6. De los tipos de pruebas que se señalan: ¿cuál es la que se utiliza con mayor facilidad en el laboratorio para confirmar la presencia de una infección por *Mycoplasma pneumoniae*?
   (A) Cultivo en caldo que contenga suero, glucosa y una penicilina (para inhibir otra microflora)
   (B) Reacción en cadena de polimerasa (PCR)
   (C) Microscopía electrónica
   (D) EIA en sueros de fases aguda y de convalecencia
7. Un niño de 13 años presenta infección por *Mycoplasma pneumoniae*. ¿Cuál es el riesgo de que se infecten otros miembros de su familia?
   (A) Ninguno; es un trastorno de transmisión sexual
   (B) 1 a 3%
   (C) 10 a 15%
   (D) 20 a 40%
   (E) 50 a 90%
8. Un varón de 19 años presenta tos y fiebre. En la radiografía de tórax se identifica consolidación del lóbulo inferior izquierdo. Se plantea el diagnóstico de neumonía. De las bacterias siguientes: ¿cuál es la causa frecuente de neumonía extrahospitalaria?
   (A) *Legionella pneumophila*
   (B) *Chlamydia pneumoniae*
   (C) *Streptococcus pneumoniae*
   (D) *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) *Klebsiella pneumoniae*
9. El mecanismo de infección por *M. pneumoniae* comienza con
   (A) Elaboración de una cápsula de polisacárido que inhibe la fagocitosis
   (B) Secreción de una exotoxina potente
   (C) Endocitosis por células ciliadas del epitelio de vías respiratorias
   (D) Adhesión a células epiteliales de vías respiratorias mediada por la adhesina P1
   (E) Captación fagocítica por macrófagos alveolares

10. La infección con *Mycoplasma genitalium*:
    (A) No está restringida a las vías urinarias.
    (B) Produce inflamación que ocasiona uretritis en varones y cervicitis en mujeres.
    (C) Se trata mejor con una cefalosporina de primera generación.
    (D) Se asocia con uretritis no gonocócica en varones.
    (E) Es asintomática a menos que ocurra infección simultánea con *Chlamydia trachomatis*.

Respuestas

1. B	5. C	9. D
2. E	6. D	10. B
3. C	7. E	
4. E	8. E	

BIBLIOGRAFÍA

Mycoplasma diseases. Vol 2, Part III, Section D. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, *et al.* (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7a. ed. Elsevier, 2010.

Razin S, Yogev D, Naot Y: Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1094.

Waites KB, Taylor-Robinson D: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. En Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

CAPÍTULO

26

Rickettsia y géneros relacionados

GENERALIDADES

Los microorganismos de la familia de *Rickettsiaceae*, patógenos para el ser humano, son bacterias pequeñas de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*. Guardan una relación muy cercana con miembros de la familia *Anaplasmataceae* que incluye los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Los microorganismos en cuestión son parásitos intracelulares estrictos transmitidos por artrópodos a los seres humanos. Muchas rickettsias siguen un ciclo transovárico de transmisión en el artrópodo que actúa como vector y reservorio. Las rickettsiosis (pero no las ehrlichiosis) típicamente se manifiestan por fiebre, erupciones y vasculitis. Se les agrupa de acuerdo a su cuadro clínico, aspectos epidemiológicos y características inmunológicas (cuadro 26-1). *Coxiella burnetii* forma parte de la familia *Coxiellaceae* y tiene vínculos más cercanos con el género *Legionella*; por conveniencia, se le expone al final del capítulo.

RICKETTSIA Y ORIENTIA

Propiedades de las rickettsias

Las rickettsias son cocobacilos pleomorfos con aspecto de conos cortos (0.3 × 1 a 2 μm) o de cocos (0.3 μm de diámetro). No se tiñen bien con la tinción de Gram pero se observan con facilidad bajo el microscopio de luz cuando se tiñen con colorante de Giemsa, colorante de Gimenez, naranja acridina y otras tinciones. Sin embargo, los métodos más útiles para confirmar el diagnóstico de rickettsiosis son las tinciones inmunohistoquímicas o por inmunofluorescencia, realizados en un laboratorio con experiencia en el diagnóstico de rickettsiosis.

Las rickettsias proliferan fácilmente en sacos vitelinos de huevos con embrión. Es posible obtener preparaciones puras de rickettsias para emplearlas en pruebas de laboratorio por medio de la centrifugación diferencial de suspensiones de saco vitelino. Muchas cepas de rickettsia también crecen en cultivo celular, en el que el intervalo de generación es de 8 a 10 h a 34 °C. El cultivo celular ha sustituido a la inoculación de animales (excepto en el caso de algunas especies de *Orientia*) y el cultivo en saco vitelino para la identificación de tales microorganismos. Por razones de bioseguridad, las rickettsias sólo se deben aislar en laboratorios especializados.

Las rickettsias poseen paredes celulares gramnegativas con ácido murámico que contiene peptidoglicano y ácido diaminopimélico. El género se divide en varios grupos. El grupo del tifus, el grupo de la fiebre exantemática y el grupo de transición tienen especies que causan enfermedad en seres humanos. Las rickettsias contienen lipopolisacáridos y las proteínas de la pared celular incluyen las proteínas de superficie OmpA y OmpB. Tales proteínas de superficie son importantes en la adhesión a las células hospedadoras y en la respuesta inmunitaria humoral, al tiempo que proporcionan la base de la serotipificación.

Las rickettsias proliferan en distintas partes de las células; las del grupo tifus por lo común residen en el citoplasma y las del grupo de fiebre exantemática por lo regular están en el núcleo. La proliferación de las rickettsias aumenta en presencia de sulfonamidas; las rickettsiosis son más graves con estos fármacos. La tetraciclina y el cloramfenicol inhiben la proliferación de las rickettsias y en ocasiones son eficaces desde el punto de vista terapéutico.

La mayor parte de las rickettsias sobrevive durante periodos muy cortos fuera del vector u hospedador. El calor, la desecación y los bactericidas químicos las destruyen con rapidez. Las heces fecales secas de los piojos infectados contienen *Rickettsia prowazekii* infecciosa durante varios meses a temperatura ambiente.

Antígenos de rickettsia y serología

Para detectar rickettsias en garrapatas y fragmentos de tejido se utilizan pruebas directas con anticuerpos inmunofluorescentes. Estas pruebas son más útiles para detectar *R. rickettsii* en biopsia de piel para ayudar al diagnóstico de fiebre exantemática de las Montañas Rocosas (RMSF, *Rocky Mountain spotted fever*); sin embargo, muy pocos laboratorios especializados llevan a cabo esta prueba.

En cualquier rickettsiosis, la evidencia serológica de la infección se presenta después de la segunda semana de la enfermedad. Por lo tanto, las pruebas serológicas sólo son útiles para confirmar el diagnóstico, que se basa en los datos clínicos (es decir, fiebre, cefalea, exantema) y la información epidemiológica (p. ej., mordedura de garrapata). El tratamiento de las enfermedades potencialmente graves, como la RMSF y el tifus, se debe instituir antes de la seroconversión.

Se han utilizado diversas pruebas serológicas para diagnosticar las rickettsiosis. La mayor parte se lleva a cabo de manera exclusiva en laboratorios especializados. Existen equipos comerciales de antígenos para la **inmunofluorescencia indirecta**, aglutinación con látex, pruebas indirectas de inmunoperoxidasa y enzimoinmunoanálisis para diagnosticar RMSF. Los reactivos para otras pruebas se preparan sólo en instituciones de salud pública y otros laboratorios especializados. Quizá el método más utilizado es la técnica indirecta de anticuerpos

apter 26_Carroll_4R.indd 341 14/04/16

CUADRO 26-1 Rickettsiosis, Ehrlichiosis y fiebre Q

Grupo	Microorganismo	Enfermedad	Distribución geográfica	Vector	Reservorio mamífero	Cuadro clínico	Pruebas diagnósticas[a]
Grupo del tifus	*Rickettsia prowazekii*	Tifus epidémico (tifus transmitido por piojos), enfermedad de Brill-Zinser	Mundial: Sudamérica, África, Asia, Norteamérica	Piojo	Seres humanos	Fiebre, escalofríos, mialgias, cefalea, exantema (sin escaras), grave sin tratamiento	Serología
	Rickettsia typhi	Tifus murino, tifus endémico, tifus transmitido por pulgas	Mundial (focos pequeños)	Pulga	Roedores	Fiebre, cefalea, mialgia, exantema (sin escaras); la enfermedad es más leve que otros tifus epidémicos	Serología
Grupo de la fiebre de los matorrales	*Orientia tsutsugamushi*	Fiebre de los matorrales	Asia, Pacífico sur, norte de Australia	Ácaro	Roedores	Fiebre, cefalea, exantema (50% con escaras), linfadenopatía, linfocitos atípicos	Serología
Grupo de la fiebre exantemática[b]	*Rickettsia rickettsii*	Fiebre exantemática de las Montañas Rocosas	Hemisferio occidental (Estados Unidos, Sudamérica)	Garrapata[c]	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema (sin escaras), numerosas manifestaciones generalizadas	FA directos de rickettsias en los tejidos; serología; PCR
	Rickettsia conorii	Fiebre botonosa, rickettsiosis exantemática de Conor, fiebre exantemática israelí, fiebre por garrapata sudafricana, tifus por garrapata africana (Kenia), tifus por garrapata india	Países del Mediterráneo, África, Medio Oriente, India	Garrapata[c]	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema, "mancha negra" (escaras)	FA directos de rickettsias en los tejidos insensibles; serología
	Rickettsia sibirica	Tifus por garrapata siberiana (tifus por garrapata del norte de Asia	Siberia, Mongolia	Garrapata[c]	Roedores	Fiebre, exantema (escara)	Serología
Grupo transicional	*Rickettsia akari*	Rickettsiosis variceliforme	Estados Unidos, Rusia, Corea, Sudáfrica	Ácaro[c]	Ratones	Enfermedad leve, fiebre, cefalea, exantema vesicular (escaras)	Serología
	Rickettsia australis	Tifus por garrapata de Queensland	Australia	Garrapata[c]	Roedores, marsupiales	Fiebre, exantema de tronco y extremidades (escaras)	Serología
Fiebre Q	*Coxiella burnetii*	Fiebre Q	Mundial	Aérea, fomite, garrapata	Ganado bovino, vacuno, caprino, otros	Cefalea, fiebre, fatiga, neumonía (sin exantema); en ocasiones complicaciones mayores	CF positiva para antígenos de la fase I, II
Ehrlichias	*Ehrlichia chaffeensis*	Ehrlichiosis monocítica humana	Región surcentral, suroriental y occidental de Estados Unidos	Garrapata	Venados, perros, seres humanos	Fiebre cefalea, leucocitos atípicos	Inclusiones en los monocitos circulantes; FA indirectos para anticuerpos
	Anaplasma phagocytophilum	Anaplasmosis granulocítica humana	Regiones medio oeste del norte, noroeste y costa oeste de Estados Unidos y Europa	Garrapata	Ratones, otros mamíferos	Fiebre, cefalea, mialgias	Inclusiones en granulocitos; FA indirectos para anticuerpos
	Ehrlichia ewingii	Ehrlichiosis granulocítica humana	Región del medio oeste de Estados Unidos	Garrapata	Perros	Fiebre, cefalea, mialgias	Inclusiones en granulocitos; FA indirectos para anticuerpos

[a] Enzimoinmunoanálisis; aglutinación en látex entre otros, según el género y la especie.
[b] Otras especies de rickettsias en el grupo de fiebre exantemática de las Montañas Rocosas que infectan al ser humano son *R. africae, R. japonica, R. honei* y *R. slovaca.*
[c] También sirve como atrópodo reservorio conservando a las rickettsias por transmisión transovárica.
FA, anticuerpos fluorescentes; PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

fluorescentes por la disponibilidad de reactivos y la facilidad con la que se puede llevar a cabo. Esta prueba es relativamente sensible, necesita poco antígeno y se utiliza para detectar inmunoglobulina M (IgM) e IgG. Las rickettsias parcialmente purificadas provenientes del material infectado del saco vitelino se someten a pruebas con diluciones del suero del paciente. Los anticuerpos reactivos se detectan con anticuerpos contra la globulina humana marcada con fluoresceína. Los resultados indican la presencia de anticuerpos parcialmente específicos contra una especie, pero también se observan reacciones cruzadas.

Anatomía patológica

Las rickettsias proliferan en células endoteliales de vasos sanguíneos finos y ocasionan vasculitis en los mismos, caracterizada por la presencia de linfocitos alrededor de dichas estructuras. Las células se edematizan y necrosan; hay trombosis en el vaso, lo que ocasiona ruptura y necrosis. Las lesiones vasculares son evidentes en la piel, pero también ocurre vasculitis en muchos órganos y al parecer ésta constituye la base de las alteraciones hemostáticas. Se acompaña de coagulación intravascular diseminada y obstrucción vascular. En el cerebro, varios grupos de linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos se alojan en los vasos sanguíneos de la materia gris y se denominan "nódulos tíficos". El corazón exhibe lesiones similares en los vasos sanguíneos; algunas veces las lesiones se extienden hasta otros órganos.

Inmunidad

En cultivos celulares de macrófagos, las rickettsias se fagocitan y multiplican dentro de la célula incluso en presencia de anticuerpos. La adición de linfocitos provenientes de animales inmunes detiene esta replicación *in vitro*. En el ser humano, la infección confiere inmunidad parcial a la reinfección proveniente de una fuente externa, pero ocurren recidivas (véanse comentarios sobre la enfermedad de Brill-Zinsser).

Manifestaciones clínicas

Las rickettsiosis se caracterizan por fiebre, cefalea, malestar general, postración, exantema cutáneo y hepatoesplenomegalia.

A. Grupo del tifus

1. Tifus epidémico (*Rickettsia prowazekii*). La enfermedad se transmite por el piojo corporal, en un ciclo humano/piojo. En este trastorno, la infección generalizada y la postración son pronunciadas y la fiebre dura unas dos semanas. Esta enfermedad es más grave y a menudo letal en los pacientes mayores de 40 años de edad. Durante la epidemia, el índice de mortalidad es de 6 a 30 por ciento.

2. Tifus endémico o murino (*Rickettsia typhi*). El método de transmisión incluye el frotamiento de las heces de pulgas infectadas en la picadura. El cuadro clínico comparte muchas de las características del tifus epidémico, pero es más leve y rara vez resulta letal, excepto en los adultos de edad avanzada.

B. Grupo de la fiebre exantemática

Desde el punto de vista clínico, este grupo semeja al tifus; sin embargo, a diferencia del exantema en otras rickettsiosis, el exantema del grupo de la fiebre exantemática por lo general se desarrolla luego de tres a cinco días de la enfermedad, primero en las extremidades, luego se desplaza de manera centrípeta e incluye las palmas de manos y las plantas de los pies. Algunas variantes, por ejemplo la fiebre exantemática brasileña y la RMSF, pueden producir varias infecciones, tal vez debido a infección de células endoteliales que conduce a permeabilidad vascular y, en consecuencia, complicaciones como el edema pulmonar y hemorragias; otras, como la rickettsiosis exantemática de Conor, son leves. La frecuencia de los casos letales es muy variable. La RMSF pone en riesgo la vida en todos los grupos etarios, pero la mortalidad suele ser mucho mayor en adultos mayores (hasta del 50%) que en adultos jóvenes o niños.

C. Grupo de transición

La rickettsiosis exantemática (*Rickettsia akari*) es una enfermedad leve con un exantema vesicular que se asemeja al variceliforme. Alrededor de una semana antes de comenzar la fiebre, se produce una pápula de color rojo firme en el sitio de la picadura del ácaro y se desarrolla dentro de una vesícula asentada con profundidad que a su vez forma una costra negra (véase más adelante).

D. Tifus de los matorrales

El tifus de los matorrales (*Orientia tsutsugamushi*). Esta es una enfermedad que se asemeja desde el punto de vista clínico al tifus epidémico. Un rasgo es la costra, la ulceración perforada con una costra ennegrecida indicativa del sitio de la picadura del ácaro. Son comunes la linfadenopatía y linfocitosis generalizadas. La enfermedad puede ser grave con afectación cardiaca y cerebral asociadas que en alrededor de 30% de pacientes conduce a la muerte.

Estudios de laboratorio

Aislar rickettsias es técnicamente difícil y sólo tiene utilidad diagnóstica limitada. También es una actividad peligrosa y debe realizarse en un laboratorio con bioseguridad de nivel 3. La inoculación de animales ha sido reemplazada por métodos de cultivo celular para cultivo de la mayor parte de rickettsias. Los especímenes apropiados incluyen plasma heparinizado, capa leucocítica y lesiones cutáneas. Los miroorganismos pueden detectarse en cultivos celulares por métodos moleculares o por tinción de inmunofluorescencia.

En RMSF, algunas otras infecciones por rickettsias y tifus de los matorrales, las biopsias que se toman de pacientes entre el cuarto y octavo días de la enfermedad pueden revelar rickettsias por tinciones de inmunofluorescencia disponibles en un laboratorio especializado de los *Centers for Disease Control and Prevention* de Estados Unidos.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) se ha utilizado para apoyar el diagnóstico de RMSF, otras variedades de la fiebre exantemática, tifus murino y de los matorrales. Los métodos de PCR de tiempo real han incrementado la sensibilidad y permiten el diagnóstico antes de una respuesta serológica. Las muestras apropiadas incluyen

tejidos, plasma y sangre periférica, así como muestras de capa leucocítica. Las técnicas moleculares se han aplicado asimismo para la detección de rickettsias en los vectores. La disponibilidad de estas pruebas es limitada, se encuentran sobre todo en laboratorios de referencia.

La serología es el método principal disponible en laboratorios clínicos para el diagnóstico de infecciones por rickettsias. Las pruebas serológicas de uso más amplio son la inmunofluorescencia indirecta y los enzimoinmunoanálisis (véase antes). La fijación del complemento ya no se utiliza en muchos laboratorios. Durante el curso de la enfermedad debería demostrarse un aumento de anticuerpos. En la RMSF, la respuesta de anticuerpo puede presentarse después de la segunda semana de la enfermedad.

Tratamiento

Las tetraciclinas, y de preferencia la doxiciclina, son eficaces si el tratamiento se emprende de manera inmediata. La doxiciclina se administra diariamente por vía oral y se continúa durante tres a cuatro días después que la fiebre mostró defervescencia. En los pacientes graves, las primeras dosis se administran por vía intramuscular. El cloramfenicol también es efectivo.

Las sulfonamidas agravan la enfermedad y están contraindicadas.

Es escasa la experiencia clínica con las fluoroquinolonas, aunque se ha demostrado que poseen actividad *in vitro*.

Epidemiología

Diversos artrópodos, en especial garrapatas y ácaros, albergan microorganismos similares a rickettsias en las células que revisten el aparato digestivo. Muchos de estos microorganismos no son patógenos para el ser humano.

Los ciclos vitales de las distintas rickettsias varían. *R. prowazekii* tiene un ciclo vital en el hombre y en el piojo del ser humano (*Pediculus humanus corporis* y *Pediculus humanus capitis*). El piojo adquiere el microorganismo al morder a personas infectadas y lo transmite al evacuar sobre la piel de otra persona. Cuando un piojo muerde, defeca al mismo tiempo. La rickettsia excretada en las heces fecales penetra en la piel cuando la persona se rasca el área de la mordedura. Como resultado de la infección, el piojo muere pero el microorganismo permanece viable durante cierto tiempo en sus heces fecales secas. Las rickettsias no se transmiten de una generación de piojos a otra. La desparasitación de gran parte de la población con insecticidas ha permitido contener la epidemia de tifus.

La **enfermedad de Brill-Zinsser** es una recrudescencia de un tifus antiguo. Las rickettsias persisten durante varios años en los ganglios linfáticos del individuo sin que se manifiesten síntomas. Las rickettsias aisladas en estos casos se comportan como la *R. prowazekii* clásica; lo anterior sugiere que el ser humano mismo es el reservorio de estas rickettsias del tifus epidémico. El tifus epidémico está muy relacionado con las guerras y la higiene personal deficiente, lo que facilita la proliferación de los piojos. Si esto ocurre en el momento en el que recrudece un tifus antiguo, surge una epidemia. La enfermedad de Brill-Zinsser ocurre en ciertas poblaciones donde existe tifus y además en personas que emigran desde estas regiones hasta otras zonas donde no existe la enfermedad. Las características serológicas permiten distinguir con facilidad a la enfermedad de Brill del tifus epidémico primario. Los anticuerpos surgen antes y corresponden a IgG en lugar de la IgM detectada después de la infección primaria. Alcanzan su punto máximo hacia el décimo día de la enfermedad. Esta respuesta precoz de anticuerpos IgG y la evolución benigna de la enfermedad sugieren que aún existe inmunidad parcial por la infección primaria.

En Estados Unidos, *R. prowazekii* tiene un reservorio fuera del ser humano en la ardilla voladora del sur, *Glaucomys volans*. En las regiones donde esta ardilla es oriunda (desde el sur de Maine hasta Florida y el centro de Estados Unidos), han ocurrido infecciones en seres humanos que han sido mordidos por los ectoparásitos de este roedor. La infección entre seres humanos tiene lugar por medio del piojo *Pediculus humanus corporis*. Informes recientes indican que el tifus epidémico puede aumentar en algunas áreas; *R. prowazekii* se considera una amenaza biológica.

El reservorio de *R. typhi* es la rata, que padece una infección oculta y prolongada. La pulga de la rata transporta a la rickettsia entre roedores y en ocasiones de roedores a seres humanos, los que desarrollan tifus endémico. Algunas veces la pulga de gato sirve como vector. En el tifus endémico, la pulga no puede transmitir la rickettsia por vía transovárica.

El reservorio verdadero de *O. tsutsugamushi* es el ácaro que infesta a los roedores. Las rickettsias permanecen en las ratas durante más de un año después de la infección. Los ácaros transmiten la infección por vía transovárica. En ocasiones, los ácaros o pulgas infectadas muerden a los seres humanos, generando fiebre tsutsugamushi. Las rickettsias permanecen en el ciclo ácaro-rata-ácaro en los matorrales o la vegetación secundaria de la selva que ha sustituido a la selva virgen en las regiones donde existen cultivos parciales. Estas zonas se infestan con ratas y ácaros trombicúlidos.

R. rickettsii habita en las garrapatas sanas de la madera (*Dermacentor andersoni*) y se transmite por vía transovárica. Las garrapatas infectadas en la región occidental de Estados Unidos en ocasiones muerden a algunos vertebrados como roedores, venados y seres humanos. Para transmitir la enfermedad, la garrapata que transporta a las rickettsias debe estar llena de sangre, puesto que de esta manera aumenta el número de rickettsias en la garrapata. Así, deben transcurrir entre 45 y 90 min entre el momento en el que la garrapata se adhiere y el contagio. En la región occidental de Estados Unidos, las garrapatas de perro *Dermacentor variabilis* y *Rhipicephalus sanguineus* transmiten la RMSF. Los perros son hospedadores de estas garrapatas y reservorios de la infección. Otro reservorio son los roedores pequeños. En la actualidad, la mayor parte de los casos de RMSF en Estados Unidos ocurre en el este y sureste de dicho país.

Los vectores de *R. akari* son ácaros hematófagos de la especie *Liponyssoides sanguineus*. Estos ácaros habitan en los ratones (*Mus musculus*) atrapados en viviendas de Estados Unidos donde ha ocurrido rickettsiosis variceliforme. Las rickettsias se transmiten por vía transovárica en el ácaro. Así, el ácaro actúa como reservorio verdadero y además vector. En Europa Oriental, Turquía y Corea se ha aislado *R. akari*.

Distribución geográfica

A. Tifus epidémico

Esta infección potencialmente mundial ha desaparecido en Estados Unidos, Reino Unido y Escandinavia. Aún existe en los Balcanes, Asia, África, México y los Andes de Sudamérica. En vista de su duración tan prolongada en los seres humanos como infección latente (enfermedad de Brill-Zinsser), puede surgir y proliferar con rapidez en el ambiente adecuado, como sucedió en Europa durante la Segunda Guerra Mundial por la deficiente higiene de la comunidad.

B. Tifus murino endémico

Esta enfermedad existe en todo el mundo, en especial en las regiones donde abunda la infestación por ratas. Existe en las mismas regiones que el tifus epidémico y la fiebre de los matorrales, y en ocasiones se confunde con éstos.

C. Fiebre de los matorrales

Esta infección se observa en el Lejano Oriente, en especial en Birmania, India, Sri-Lanka, Nueva Guinea, Japón, el occidente de Australia, este de Rusia, China y Taiwán. La fase larvaria (nigua) de diversos ácaros trumbiculidos sirve como reservorio, por transmisión transovárica, y como vector para la infección de seres humanos y roedores.

D. Grupo de fiebres exantemáticas

Estas infecciones también tienen distribución mundial, pero como regla exhiben algunas diferencias epidemiológicas e inmunitarias en diversas regiones. En este grupo es frecuente la transmisión por una garrapata de la familia Ixodidae. Algunas de las enfermedades que pertenecen a este grupo son la fiebre exantemática de las Montañas Rocosas y las fiebres exantemáticas colombiana, brasileña y mexicana; la rickettsiosis exantemática de Conor (botonosa) y las rickettsiosis transmitidas por garrapatas sudafricanas y de Kenia; el tifus por garrapata del norte de Queensland y la rickettsiosis transmitida por garrapatas del norte de Asia.

E. Rickettsiosis variceliforme

Esta enfermedad se ha observado en personas que viven en edificios de apartamentos en el norte de Estados Unidos. Sin embargo, también ocurre en Rusia, África y Corea.

Frecuencia estacional

El tifus epidémico es más frecuente durante las épocas de frío y alcanza su punto máximo en el invierno y final de la primavera. Probablemente esto refleja el hacinamiento, la escasez de combustible y la higiene personal deficiente, los cuales facilitan la infestación por piojos.

Las rickettsiosis que deben ser transmitidas al hospedador humano a través de un vector alcanzan su punto máximo cuando predomina más el vector, durante los meses de verano y otoño.

Control

Para contener esta epidemia es necesario romper la cadena de la infección por medio del tratamiento con antibióticos y la vacunación de los pacientes siempre que sea posible. Los pacientes con alguna rickettsiosis que no tienen ectoparásitos no son contagiosos ni transmiten la infección.

A. Prevención de la transmisión por rompimiento de la cadena de la infección

1. Tifus epidémico. Desparasitación con insecticida.

2. Tifus murino. Acondicionamiento de los edificios para que sean a prueba de ratas y utilización de venenos contra las mismas.

3. Fiebre de los matorrales. Eliminación en los campamentos de la vegetación secundaria en la que pudieran habitar ratas y ácaros.

4. Fiebres exantemáticas. Se utilizan medidas similares para las fiebres exantemáticas, lo que incluye la limpieza de la tierra infestada, la profilaxia personal al usar ropa protectora como botas, calcetines sobre los pantalones, repelentes de ácaros y el retiro frecuente de las garrapatas adheridas.

5. Rickettsiosis variceliforme. Eliminación de roedores y sus parásitos en las viviendas.

Verificación de conceptos

- Las rickettsias son cocobacilos pleomorfos, patógenos intracelulares estrictos similares a las bacterias gramnegativas, pero no captan la tinción de Gram.
- Las rickettsias se cultivan en líneas celulares y sacos vitelinos, pero para su detección en material humano por lo común se utilizan tinciones inmunohistoquímicas o inmunofluorescentes, técnicas serológicas o métodos moleculares.
- El signo característico de la infección por *Rickettsia* es la vasculitis.
- Las rickettsias pueden dividirse en grupos de tifus, fiebre exantemática y de transición; *O. tsutsugamushi* causa el tifus de los matorrales. Los vectores, las manifestaciones clínicas y la distribución geográfica varían con el grupo.
- La enfermedad puede ser poco intensa como ocurre en el caso de la rickettsiosis variceliforme, o grave, como en la fiebre exantemática de las Montañas Rocosas.
- La doxiciclina es el fármaco de elección.

EHRLICHIA Y *ANAPLASMA*

Las ehrlichias que causan enfermedades en los seres humanos se han clasificado en un número limitado de especies, con base en gran parte en el análisis de la secuencia de genes de rRNA. Esta clasificación es: *Ehrlichia chaffeensis,* que causa ehrlichiosis monocitotrópica humana (HME, *human monocytotropic ehrlichiosis*); *Ehrlichia ewingii*, que causa ehrlichiosis granulocítica humana; *Anaplasma phagocytophilum*, que causa anaplasmosis granulocítica humana (HGE, *human granulocyte anaplasmosis*). Los mismos géneros comprenden otras especies que al parecer infectan animales pero no seres humanos. Los microorganismos patógenos para el ser humano en el grupo

tienen sus reservorios en ciertos animales, a los que también pueden enfermar.

El grupo *Ehrlichia* está formado por bacterias intracelulares estrictas que se agrupan desde el punto de vista taxonómico con las rickettsias. Sus vectores son garrapatas (cuadro 26-1).

Propiedades de Ehrlichia

Las ehrlichias y la *anaplasma* son bacterias gramnegativas intracelulares estrictas y pequeñas (0.5 μm). Infectan leucocitos, eritrocitos y plaquetas circulantes, donde se multiplican dentro de vacuolas fagocíticas, que forman cúmulos con una imagen similar a la de cuerpos de inclusión. Los cúmulos de ehrlichias han recibido el nombre de **mórulas**, del término latino mora. Ehrlichia y Chlamydia (capítulo 27) son similares en cuanto a que viven en vacuolas intracelulares. Sin embargo, las ehrlichias son como rickettsias en el sentido de que pueden sintetizar trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*); Chlamydia no lo hace.

Manifestaciones clínicas

Los periodos de incubación después de la picadura de garrapata, en lo que se refiere a HME y HGE, pueden variar de cinco a 21 días. Las manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis en el hombre son inespecíficas e incluyen fiebre, escalofríos, cefalea, mialgias, náusea o vómito, anorexia y pérdida de peso. Estas manifestaciones son muy similares a las de la RMSF sin el exantema. *E. chaffeensis* con frecuencia y *A. phagocytophilum* con menor frecuencia originan una enfermedad grave o letal. Las complicaciones en el caso de HME incluyen meningoencefalitis, insuficiencia renal, miocarditis e insuficiencia respiratoria, entre otros síndromes que ponen en peligro la vida, incluido el choque. Los estudios de seroprevalencia sugieren que frecuentemente surge la ehrlichiosis subclínica.

Estudios de laboratorio

Las anomalías en estudios de laboratorio en el caso de HME y HGE incluyen leucopenia, linfopenia, trombocitopenia y una mayor concentración de enzimas hepáticas. El diagnóstico se confirma por la detección de las típicas mórulas en leucocitos (granulocitos en caso de HGA o *E. ewingii* y mononucleares en el caso de HME). La sensibilidad del estudio microscópico en busca de mórulas alcanza su máximo en la primera semana de la infección y varía de 25 a 75 por ciento.

También se pueden utilizar pruebas indirectas con anticuerpos fluorescentes para confirmar el diagnóstico. Se miden los anticuerpos contra *E. chaffeensis* y *A. phagocytophilum*. *E. chaffeensis* también se utiliza como sustrato para *E. ewingii*, puesto que ambas especies comparten antígenos. La seroconversión de < 1:64 a ≥ 1:128 o un aumento cuatro veces mayor o más en la concentración confirma el diagnóstico serológico de HME en el paciente con datos clínicos compatibles.

Se han descrito múltiples métodos para detectar la presencia de bacterias del género *Ehrlichia* en sangre anticoagulada con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) por medio de PCR. También se utiliza el cultivo en tejidos con diversas líneas celulares. Tanto la PCR como el cultivo se llevan a cabo en laboratorios especializados y en unos cuantos laboratorios comerciales.

Tratamiento

Las tetraciclinas, casi siempre en forma de doxiciclina, aniquilan a la ehrlichia y constituyen el tratamiento de elección. El tratamiento se administra por cinco a 14 días. Las rifamicinas también pueden actuar contra las ehrlichias. Datos escasos sugieren que no son útiles las fluoroquinolonas ni el cloranfenicol.

Epidemiología y prevención

No se ha definido con precisión la incidencia de las ehrlichiosis en seres humanos. Se ha identificado *E. chaffeensis* en garrapatas en 14 estados, como mínimo, de las regiones suroriental, surcentral y atlántica media de Estados Unidos, pero se han notificado casos de HME en más de 30 estados. El área en cuestión corresponde al espacio de distribución de la garrapata *Amblyomma americanum*. Los casos de ehrlichiosis monocitotrópica humana en la zona occidental de Estados Unidos, en Europa y en África, sugieren la intervención de otras garrapatas vectoras como *D. variabilis*. En Oklahoma, estado con la máxima incidencia de RMSF, es prácticamente igual su frecuencia a la de la ehrlichiosis monocitotrópica humana. Más del 90% de los casos se manifiestan en un lapso que abarca desde mediados de abril hasta octubre, y más de 80% de los casos afectan varones. Muchos individuos señalan antecedentes de exposición a las garrapatas en el mes anterior al del comienzo de la enfermedad.

En la zona alta del Medio Oeste y estados de la costa oriental y de la costa occidental en Estados Unidos también se han identificado casos de ehrlichiosis granulocitotrópica humana; las zonas en cuestión muestran correspondencia con la distribución de las garrapatas vectoras *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus*, de manera respectiva.

Verificación de conceptos

- Los patógenos que ocasionan las ehrlichiosis de humanos incluyen a *E. chaffeensis*, agente etiológico de HME; *E. ewingii*, que ocasiona la ehrlichiosis de Ewingii y *Anaplasma phagocytophilum*, el elemento patógeno de HGE.
- El grupo de *Ehrlichia* consiste en bacterias intracelulares estrictas transmitidas por garrapatas vectoras.
- Especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* infectan leucocitos circulantes, células en que se multiplican en el interior de vacuolas fagocíticas a partir de mórulas.
- Las manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis en seres humanos son inespecíficas e incluyen fiebre, escalofrío, cefalea, mialgias, náusea o vómito, anorexia y pérdida de peso.
- El diagnóstico se hace al demostrar mórulas en los leucocitos respectivos (prueba relativamente insensible) y por estudios serológicos o PCR.
- La doxiciclina es el fármaco de elección en el tratamiento.

COXIELLA BURNETII

Propiedades

Coxiella burnetii es un pequeño microorganismo estricto con una membrana similar a la de las bacterias gramnegativas. Sin

embargo, no capta la tinción de Gram, pero sí la de Gimenez. *C. burnetii,* causa de la fiebre Q, es resistente al secamiento. Dicho microorganismo sobrevive a la pasteurización a 60 °C durante 30 min y puede vivir meses en heces o leches secas; lo anterior se debe a la formación de estructuras similares a endosporas por parte de *C. burnetii*. Las coxiellas proliferan sólo en las vacuolas citoplásmicas.

Antígenos y variación antigénica

C. burnetii, en cultivo celular, presenta proliferación en varias fases. Dichas etapas corresponden a diferencias de su virulencia. La fase I es la forma virulenta que se presenta en seres humanos con fiebre Q y animales vertebrados infectados; el factor fundamental de virulencia al parecer es la forma infecciosa del microorganismo y el lipopolisacárido expresado durante la fase comentada. Las formas de la fase II no son infecciosas y se desarrollan sólo por el paso seriado en cultivos celulares. Los sujetos con enfermedad clínica generan anticuerpos contra los antígenos de fase I y II.

Epidemiología

C. burnetii se localiza en garrapatas, que lo transmiten a ovejas, cabras y ganado bovino, pero es poco frecuente la transmisión por parte de los ácaros a los seres humanos. Los trabajadores de rastros y de plantas que preparan lana y cueros de ganado bovino han contraído la enfermedad al manipular tejidos de animales infectados. *C. burnetii* se transmite por la vía respiratoria y no a través de la piel. Puede surgir una infección crónica de las ubres de vacas o cabras; en tales casos, las rickettsias son excretadas en la leche y rara vez se transmite a los seres humanos si ingieren leche no pasteurizada.

Las ovejas infectadas pueden excretar *C. burnetii* en las heces y la orina, y contaminan fuertemente la piel y la lana de recubrimiento. La placenta de vacas, ovejas, cabras y gatas infectadas contiene el microorganismo y durante el parto se generan aerosoles infectantes. La tierra puede estar fuertemente contaminada con cualquiera de las fuentes anteriores, y la inhalación del polvo infectado culmina en la infección de seres humanos y de ganado. Se ha planteado que las endosporas formadas por *C. burnetii* contribuyen a la persistencia y la diseminación. La infección por *Coxiella* es amplia en ganado ovino y bovino en Estados Unidos. *Coxiella* causa endocarditis (con un aumento en la concentración de anticuerpos contra *C. burnetii*, fase I), además de neumonitis y hepatitis.

Manifestaciones clínicas

A. Fiebre Q

Este trastorno se ha identificado en todo el mundo y afecta más bien a personas que están en relación con cabras, ovejas, ganado lechero y gatas parturientas. Ha atraído la atención debido a los brotes en centros veterinarios y médicos, en que un gran número de personas quedaron expuestas a animales que diseminaron especies de *Coxiella*.

Las infecciones pueden ser agudas o crónicas. La forma aguda se asemeja a la gripe (influenza), la neumonía no bacteriana (atípica) y la hepatitis. Se advierte un incremento en la concentración de anticuerpos específicos contra *C. burnetii*, fase II. La transmisión es consecuencia de la inhalación de polvo contaminado con el microorganismo presente en placenta, heces secas, orina o leche y de aerosoles en mataderos.

La infección crónica por fiebre Q dura más de seis meses. La endocarditis infecciosa es la forma más frecuente de enfermedad en tal fase. En los hemocultivos no se identifican bacterias, y hay una concentración grande de anticuerpos contra *C. burnetii* fase I. Prácticamente todos los pacientes tenían desde antes anomalías valvulares o alguna forma de disfunción inmunitaria.

Estudios de laboratorio

Es posible identificar *C. burnetii* en cultivos celulares, pero tal técnica debe hacerse sólo en laboratorios con cierta experiencia, con un nivel 3 de bioseguridad. La serología es el método diagnóstico de elección, y el mejor método es la inmunofluorescencia indirecta. PCR ha sido útil para diagnosticar endocarditis negativa en cultivo causada por *C. burnetii*.

Tratamiento

La doxiciclina es el fármaco de elección para tratar la fiebre Q aguda. También se ha demostrado eficacia de los nuevos macrólidos para tratar la neumonía aguda. La fiebre Q crónica obliga a prolongar el tratamiento durante 18 meses o más con una combinación de doxiciclina e hidroxicloroquina. El tratamiento es largo, como se mencionó antes, y ello depende de la disminución de los valores de anticuerpos de fase I. En la endocarditis se necesitan combinaciones de fármacos para evitar la recidiva; a veces se necesita reemplazo valvular y con ello se prolonga la supervivencia.

Prevención

La pasteurización con "temperatura alta y lapsos breves" a 71.5 °C durante 15 s, que son las condiciones recomendadas, bastan para destruir especies viables de *Coxiella*.

En el caso de *C. burnetii* se cuenta con una vacuna en fase de investigación elaborada en sacos vitelinos de huevo infectados; la vacuna se ha utilizado en trabajadores de laboratorio que manipulan *C. burnetii* vivos, pero sólo está disponible comercialmente en Australia.

Verificación de conceptos

- *C. burnetii* es un microorganismo pequeño y estricto con una membrana similar a la de bacterias gramnegativas, que no capta la tinción de Gram, se multiplica dentro de vacuolas y ocasiona la fiebre Q.
- *C. burnetii* existe en dos formas antigénicas llamadas fase I y II. La primera es la forma virulenta que se produce en los seres humanos con fiebre Q y animales vertebrados infectados, y constituye la forma infecciosa. La segunda es la forma inocua.
- *C. burnetii* se presenta en ovejas, cabras, vacas y diversos animales, que por lo común son asintomáticos. Se transmite a los seres humanos por inhalación de polvo contaminado con las heces de animales, productos de la concepción o polvo de productos como cueros crudos contaminados.

- La fiebre Q se caracteriza por infecciones agudas y crónicas. La neumonía y la hepatitis aguda se acompañan de anticuerpos contra antígenos de fase II. La endocarditis es la forma más común de infección crónica y se acompaña de anticuerpos contra antígenos de fase I.
- El diagnóstico se basa en la sospecha clínica y se confirma en gran medida por medio de estudios serológicos o PCR realizados en laboratorios especializados, que han creado y corroborado sus propias técnicas.
- La doxiciclina es el fármaco de elección contra infecciones agudas y crónicas. En estas últimas, se combina con la hidroxicloroquina.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Las mórulas (inclusiones intracelulares en los leucocitos), son características de cuál de las enfermedades siguientes:
   (A) Paludismo por *Plasmodium falciparum* pero no por *Plasmodium malarie*
   (B) Dengue
   (C) Babesiosis
   (D) Ehrlichiosis
   (E) Loa loa
2. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el tifus epidémico (por *Rickettsia prowazekii*) es más exacta?
   (A) La enfermedad ocurre principalmente en África subsahariana
   (B) Se transmite por garrapatas
   (C) El reservorio es el ratón
   (D) Desde el punto de vista histórico, esta enfermedad ocurre en época de prosperidad
   (E) En algunos casos, la enfermedad recrudece varios años después de la infección inicial
3. El fármaco más útil para el tratamiento de la ehrlichiosis es
   (A) Doxiciclina
   (B) Penicilina G
   (C) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Gentamicina
   (E) Nitrofurantoína
4. Los miembros de varias familias en una casa dañada y sin calefacción en un país del este de Europa manifestaron una enfermedad caracterizada por malestar general, cefalea, rigidez y fiebre. Se observó un exantema con manchas rojas de 2 a 6 mm en el tronco y luego en las extremidades de las personas. En algunos de ellos se acompañaba de tos. Un adulto de edad avanzada, aunque enfermo, se encontraba menos grave que los demás adultos. Los sujetos se hacinaban para mantenerse calientes; con frecuencia tenían piojos. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes es la más precisa?
   (A) La enfermedad que padecían estos sujetos es frecuente en los estados de las Montañas Rocosas
   (B) El anciano había padecido tifus epidémico agudo hacía varios años y ahora se trataba de un tifus recrudescente
   (C) Las pulgas de los roedores que habitaban en la casa estaban diseminando *Rickettsia typhi*
   (D) El hospedador principal del piojo del cuerpo que infecta a los seres humanos es la rata
   (E) El tifus epidémico se puede prevenir por medio de una vacuna
5. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre ehrlichia y ehrlichiosis es la más adecuada?
   (A) Los perros y ratones son reservorios
   (B) Los mosquitos son los vectores
   (C) El tratamiento de elección es la ampicilina
   (D) El cultivo es un método adecuado para confirmar el diagnóstico
   (E) Ehrlichia se observa de forma típica en los linfocitos
6. Un grupo de adolescentes de la ciudad visitó un rancho de ovejas en un estado grande del oeste por dos semanas. Durante su estancia, varias hembras parieron corderos para deleite de los adolescentes. Unos diez días después, tres de los adolescentes desarrollaron una enfermedad similar a la gripe caracterizada por malestar general, tos y fiebre. En uno de ellos se observó un infiltrado en la radiografía de tórax que indicaba neumonía. Los tres adolescentes fueron tratados por distintos doctores, pero todos los médicos extrajeron sangre y la enviaron a los laboratorios del sector salud para que se realizaran pruebas serológicas. Las tres muestras fueron positivas para fiebre Q. Los investigadores de salud pública establecieron que estos adolescentes habían estado en un rancho de ganado ovino. Cuando los investigadores interrogaron al personal del rancho, les informaron que no había fiebre Q en ese sitio y que ninguno de los que vivía en el rancho había estado enfermo. La explicación más probable para la enfermedad de los adolescentes y la ausencia de enfermedad en el rancho es:
   (A) Que no había fiebre Q en el rancho y que la adquirieron en otro lugar
   (B) Que las personas del rancho habían sido vacunadas contra la fiebre Q
   (C) Que los adolescentes adquirieron la fiebre Q en el rancho y las personas que vivían en el mismo habían padecido previamente la enfermedad y ahora eran inmunes
   (D) Que los adolescentes padecían otras enfermedades y que el resultado serológico positivo para fiebre Q era independiente
   (E) Que el laboratorio del sector salud había cometido errores en las pruebas serológicas de fiebre Q
7. Un deportista maduro que vivía en Oklahoma salió a caminar por el área boscosa y la maleza cercana a su hogar. La siguiente mañana encontró y retiró una garrapata grande (> 1 cm) en el tercio superior del brazo. Una semana después empezó con fiebre y malestar general graduales. Ahora busca atención médica puesto que le preocupa tener una infección transmitida por la garrapata. ¿Cuál de las enfermedades siguientes es la que con mayor probabilidad se adquiere a través de una garrapata?
   (A) Dengue
   (B) Fiebre exantemática de las Montañas Rocosas
   (C) Tifus
   (D) Fiebre amarilla
   (E) Paludismo
8. ¿Cuál de los siguientes fármacos no se debe utilizar en el tratamiento de la fiebre exantemática de las Montañas Rocosas? (infección por *Rickettsia rickettsii*)
   (A) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (B) Cloramfenicol
   (C) Doxiciclina
9. ¿Cuál de los siguientes se debe utilizar para evitar la fiebre exantemática de las Montañas Rocosas? (infección por *Rickettsia rickettsii*)
   (A) Vacuna con *Rickettsia rickettsii* atenuadas
   (B) Doxiciclina profiláctica
   (C) Prevención de las mordeduras de garrapatas usando ropa protectora
   (D) Desparasitación con insecticida

10. Una semana después de haber ido a cazar venados a una zona boscosa, un varón de 33 años de edad empezó con fiebre de 39 °C, cefalea y malestar general. En las 24 h siguientes manifestó náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea. Al cuarto día se desarrolló un exantema, al principio en las muñecas y tobillos y luego se extendió hasta los miembros superiores, tronco, palmas de las manos y plantas de los pies. Al principio el exantema era tipo macular, pero rápidamente se convirtió en maculopapular con algunas petequias centrales. Se diagnosticó fiebre exantemática de las Montañas Rocosas causada por *Rickettsia rickettsii*. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre la fiebre exantemática de las Montañas Rocosas son correctas?
    (A) Los vectores de *Rickettsia rickettsii* son garrapatas del género *Ixodes*
    (B) Hacia el cuarto día de la enfermedad se produce un exantema
    (C) *Rickettsia rickettsii* forma inclusiones en los monocitos
    (D) La respuesta de anticuerpos del paciente no siempre se presenta sino hasta la segunda semana de la enfermedad
    (E) Esta enfermedad es más frecuente en los estados de las Montañas Rocosas
11. El tratamiento recomendado contra la endocarditis por fiebre Q es:
    (A) Intervención quirúrgica de emergencia; los antibióticos no son eficaces
    (B) Levofloxacino, como fármaco único, durante seis semanas
    (C) Dieciocho meses de combinación a base de doxiciclina e hidroxicloroquina
    (D) Combinación de penicilina y gentamicina, utilizando los valores de IgG para calcular la duración del tratamiento
12. *C. burnetii* se transmite por la leche cuando se infectan animales como cabras y vacas. Las exigencias recomendadas de pasteurización con temperatura alta y lapso breve son adecuadas para destruir *Coxiella* viable.
    (A) Verdadero
    (B) Falso
13. El signo histopatológico característico de la infección por *Rickettsia rickettsiae* es:
    (A) Mórulas dentro de granulocitos
    (B) Mórulas dentro de monocitos
    (C) Inflamación granulomatosa
    (D) Vacuolas intracelulares
    (E) Linfocitos perivasculares
14. Todas las afirmaciones siguientes en cuanto a la rickettsiosis pustulosa son correctas, *excepto*
    (A) La causa de la enfermedad es *R. akari*
    (B) Las garrapatas del género *Amblyomma* son las responsables de transmitir el microorganismo patógeno
    (C) La enfermedad es poco intensa
    (D) La enfermedad es más frecuente en áreas urbanas que en rurales
15. Las causas por las cuales *C. burnetii* puede ser agente para usar en actos de bioterrorismo incluyen que:
    (A) Se adquiere por inhalación
    (B) Es muy infectante
    (C) Es difícil su tratamiento según la fase de infección
    (D) La neumonía puede ser muy grave
    (E) Todas las anteriores

Respuestas

1. D	5. A	9. C	13. E
2. E	6. C	10. D	14. B
3. A	7. B	11. C	15. E
4. B	8. A	12. A	

BIBLIOGRAFÍA

Gikas A, Kokkini S, Tsioutis C: Q fever: Clinical manifestations and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:529-539.

Graves SR, Massung RF. *Coxiella*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2015.

Reller ME, Dumler JS: *Ehrlichia, Anaplasma*, and related intracellular bacteria. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11th ed. Washington, DC: ASM Press, 2015.

Thomas RJ, Dumler JS, Carlyon JA: Current management of human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis, and *Ehrlichia ewingii* ehrlichiosis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009;7:709-722.

Walker DH, Bouyer DH. *Rickettsia* and *Orientia*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. Washington, DC: ASM Press, 2015.

CAPÍTULO

27

Clamidias

Las clamidias que infectan a los seres humanos se dividen en tres especies, *Chlamydia trachomatis, Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia psittaci* con base en su composición antigénica, inclusiones intracelulares, sensibilidad a la sulfadiazina y tipo de enfermedad ocasionada. La separación del género *Chlamydia* en los subgéneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* fue punto de controversia; en este capítulo, se consideran tres clamidias que son patógenos de humanos y están dentro del género *Chlamydia*, en concordancia con publicaciones que no apoyan la nueva taxonomía. Otras clamidias infectan a los animales pero rara vez a los seres humanos. Todas las clamidias exhiben características morfológicas similares, comparten un grupo antigénico común y se multiplican en el citoplasma de las células del hospedador por medio de un ciclo vital característico. Las clamidias se pueden considerar bacterias gramnegativas que carecen de los mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*). Esto las limita a una existencia intracelular, donde la célula hospedadora elabora productos intermedios con abundante energía. Por lo tanto, las clamidias son **patógenos intracelulares estrictos (obligados)**.

Ciclo de desarrollo

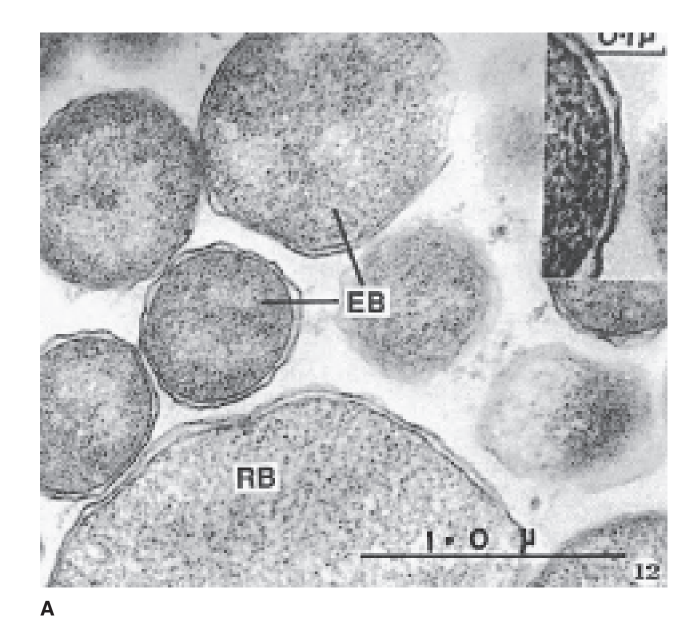
Las clamidias comparten un ciclo bifásico reproductivo común. La partícula infecciosa estable en el ambiente (la forma transmisible) es una célula pequeña llamada **cuerpo elemental** o **EB** (*elementary body*). Mide casi 0.3 μm de diámetro (figura 27-1) y tiene un nucleoide electrodenso. Las proteínas de la membrana del EB poseen grandes enlaces cruzados. Los EB tienen gran afinidad por las células epiteliales del hospedador y penetran en ellas con rapidez. El primer paso en la penetración entraña la interacción entre las proteínas de la membrana externa del EB y el proteoglucano del sulfato de heparina de las células del hospedador. El segundo paso comprende la unión adicional e irreversible con muy diversos receptores celulares de otros hospedadores. Al parecer existen múltiples adhesinas como OmcB, la proteína principal de la membrana exterior (**MOMP**; *major outer membrane protein*), MOMP glucosilada y otras proteínas de superficie. Después de la adhesión, los mecanismos que al parecer median la penetración en la célula del hospedador también son variables y comprenden redisposiciones del citoesqueleto y la activación de los sistemas de secreción de tipo III y otros efectores. Por lo común se advierte que los EB están adheridos cerca de una base de las microvellosidades, sitio en el cual más adelante son "engullidos" por la célula del hospedador. Al parecer intervienen varios mecanismos: endocitosis mediada por receptor dentro de las depresiones revestidas de clatrina, y pinocitosis, por medio de depresiones sin revestimiento. Queda inhibida la fusión lisosómica y así se crea un entorno protegido dentro de la membrana alrededor de la clamidia. Poco después de la penetración en la célula del hospedador se reducen los enlaces disulfuro de las proteínas de la membrana de EB (deja de haber enlaces cruzados) y se reorganiza EB en una estructura de mayor tamaño denominada **cuerpo reticulado (RB**; ***reticulate body*****) [forma replicativa]** que mide 0.5 a 1 μm (consúltese la figura 27-1) y que no posee un nucleoide electronicodenso. Dentro de la vacuola con membrana, RB aumenta de tamaño y se divide repetidas veces por fisión binaria. Finalmente toda la vacuola queda llena por EB provenientes de RB hasta formar una **inclusión** citoplásmica. Los EB recién formados pueden ser liberados desde la célula del hospedador para infectar nuevas células. El ciclo de desarrollo dura 48 a 72 horas.

Estructura y composición química

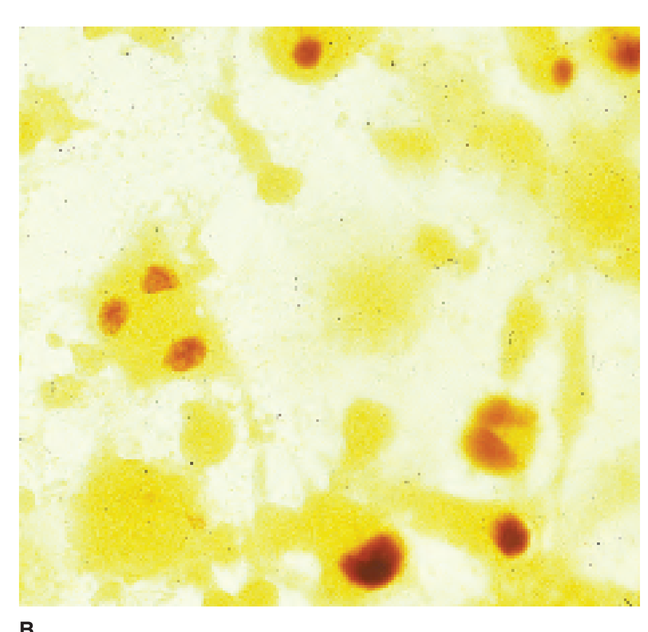
En las clamidias la **pared exterior** se asemeja a la pared de bacterias gramnegativas. Tiene un contenido de lípidos relativamente grande e incluye lipopolisacáridos de poca actividad endotóxica. Es rígida, pero no contiene un típico peptidoglucano bacteriano. Como mencionamos, MOMP es otro componente estructural importante codificado por *ompA*. Las variantes antigénicas de *C. trachomatis* de tipo MOMP, se vinculan con diferentes síndromes clínicos. Las proteínas que se unen a penicilina (PBP, *penicillin-binding proteins*) aparecen en las clamidias y la formación de la pared de este microorganismo es inhibida por dicho antibiótico y otros fármacos que inhiben la transpeptidación del peptidoglucano bacteriano. Las lisozimas no tienen efecto alguno en las paredes de las clamidias. El ácido *N*-acetilmurámico al parecer no está presente en las paredes de dicho microorganismo. En EB y RB se detectan DNA y RNA. Los RB contienen una cantidad de RNA cuatro veces mayor que la de DNA, en tanto que en el caso de EB contienen los dos ácidos nucleicos en cantidades iguales. En los EB, gran parte del DNA está concentrado en el nucleoide central electronicodenso. Gran parte del RNA existe en los ribosomas. El genoma circular de las clamidias tiene una longitud de 1.04 megabases, codifica 900 géneros y es uno de los genomas bacterianos más pequeños.

Ya se ha establecido la secuencia de múltiples genomas de clamidias, lo que ha permitido conocer gran parte de la biología básica de estos microorganismos. Por ejemplo, las clamidias

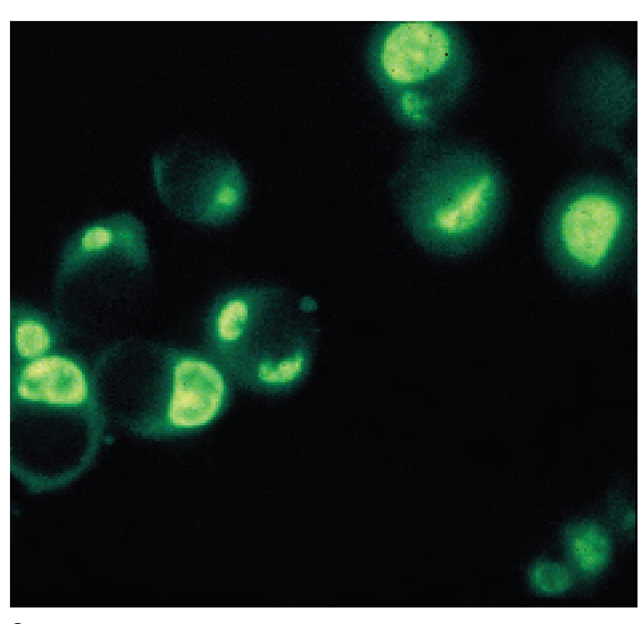
apter 27_Carroll_4R.indd 351 14/04/16



A



B



C

FIGURA 27-1 Clamidias. **A:** Microfotografía electrónica de un corte delgado de clamidia en diversas fases de desarrollo. EB, partículas de cuerpo elemental con paredes celulares (*inserto*); RB, cuerpo reticulado. **B:** *Chlamydia trachomatis* cultivada en células de McCoy y teñida con yodo. Las células de McCoy se tiñen de color amarillo claro en el fondo. Las inclusiones intracitoplásmicas con abundante glucógeno de *Chlamydia trachomatis* se tiñen de color café oscuro. **C:** Crecimiento similar de *Chlamydia trachomatis* en células de McCoy teñidas con un anticuerpo marcado con fluoresceína contra un antígeno de especie de clamidia. Las inclusiones intracitoplásmicas de *C. trachomatis* se tiñen de color amarillo verdoso brillante. Se observan además los bosquejos claros de las células de McCoy. (Por cortesía de J. Schachter.)

poseen un sistema de secreción tipo III, que les permite inyectar proteínas efectoras en la célula hospedadora como parte del proceso infeccioso (véase antes Ciclo de desarrollo).

Propiedades de tinción

Las clamidias tienen propiedades características de tinción (similares a las de las rickettsias). Los cuerpos elementales se tiñen de color púrpura con colorante de Giemsa, a diferencia del color azul que adquiere el citoplasma de la célula hospedadora. Los cuerpos reticulados más grandes y no infecciosos se tiñen de color azul con colorante de Giemsa. La tinción de Gram de la clamidia es negativa y variable y carece de utilidad para identificar a estos microorganismos. Las partículas de clamidia y las inclusiones brillan con inmunofluorescencia, con anticuerpos específicos para grupo, específicos para especie o específicos para cada serotipo.

Las inclusiones intracelulares maduras y compuestas de *C. trachomatis* son formaciones compactas cerca del núcleo que se tiñen de color púrpura oscuro con tinción de Giemsa a causa de las partículas maduras densamente compactas. Si se les tiñe con solución diluida de yodo Lugolo, algunas de las inclusiones de *C. trachomatis* (pero no de *C. pneumoniae* o *C. psittaci*) son de color café a causa de la matriz de glucógeno que rodea a las partículas (figura 27-1). En cambio, las inclusiones de *C. psittaci* son cúmulos intracitoplásmicos difusos.

Antígenos

Las clamidias poseen **antígenos compartidos específicos de grupo (género)**. Éstos son lipopolisacáridos termoestables con ácido 2-ceto-3-desoxioctanoico como componente inmnunodominante. Los anticuerpos contra estos antígenos específicos de género se detectan por medio de **fijación del complemento** (CF, *complement fixation*) e inmunofluorescencia.

Los **antígenos específicos de especie** o **de serovariedad** son básicamente proteínas de la membrana externa. El mejor método para detectar antígenos específicos es la **inmunofluorescencia**, en especial la que utiliza anticuerpos monoclonales. Los antígenos específicos son compartidos por un número limitado de clamidias, pero un solo microorganismo puede contener varios antígenos específicos. Se conocen, como mínimo, 15 **serotipos** de *C. trachomatis* separadas en dos biovariantes que originan diferentes síndromes clínicos. La biovariedad del tracoma incluye los serotipos A, B, Ba y C, así como los serotipos D-K del aparato genital. La biovariedad del linfogranuloma venéreo (LGV; *lymphogranuloma venereum*) incluye los serotipos L1, L2 y L3. Algunas serotipos de *C. psittaci* se demuestran por medio de **CF** y **microinmunofluorescencia (MIF, *microimmunofluorescence*).** Solamente se ha descrito una serotipo de *C. pneumoniae*.

Proliferación y metabolismo

Las clamidias necesitan un hábitat intracelular por la pequeñez de su genoma, lo cual las vuelve dependientes de las células del hospedador para sus necesidades de desarrollo y de energía. Las clamidias crecen en cultivos de diversas líneas de células eucariotas. Con frecuencia se utilizan células de McCoy tratadas con cicloheximida para cultivar clamidias; *C. pneumoniae* crece mejor en células HL o HEp-2. Todas las variedades de clamidia proliferan en embriones de huevo, en particular en el saco vitelino.

Algunas clamidias tienen metabolismo endógeno similar a otras bacterias. Liberan CO_2 a partir de glucosa, piruvato y glutamato. Además contienen deshidrogenasas. Sin embargo, necesitan de los intermediarios ricos en energía de la célula hospedadora para llevar a cabo sus actividades biosintéticas.

Numerosos antibacterianos inhiben la proliferación de la clamidia. Los inhibidores de la pared celular como penicilinas y cefalosporinas provocan la formación de variedades con defectos morfológicos, pero no son eficaces en las enfermedades clínicas. Los inhibidores de la síntesis de proteínas (tetraciclinas, eritromicina) son efectivos en la mayor parte de las infecciones clínicas. Las cepas de *C. trachomatis* sintetizan folatos y son susceptibles a ser inhibidas por las sulfonamidas. Los aminoglucósidos no son inhibidores.

Características de la relación hospedador-parásito

Una característica biológica destacada de la clamidiosis es el equilibrio que a menudo alcanzan el hospedador y el parásito, con lo cual la infección persiste durante un tiempo prolongado. En el hospedador natural de estos microorganismos, la regla es la infección subclínica y la excepción es la enfermedad manifiesta. Por lo general la enfermedad es resultado de la diseminación de una especie a otra (p. ej., de aves a seres humanos, como la psitacosis). El hospedador infectado constantemente produce anticuerpos contra diversos antígenos de las clamidias. Estos anticuerpos tienen un efecto protector mínimo contra la reinfección. El microorganismo persiste en presencia de una concentración elevada de anticuerpos. El tratamiento con algún antimicrobiano eficaz (p. ej., tetraciclinas) durante un periodo prolongado algunas veces elimina a la clamidia del hospedador infectado. Durante la etapa incipiente, el tratamiento intensivo suprime la formación de anticuerpos. El tratamiento con dosis moderadas de antimicrobianos en una etapa tardía suprime la enfermedad, pero permite que el microorganismo infeccioso persista en los tejidos.

La vacunación del ser humano para protegerlo contra la reinfección ha fracasado. La infección previa o la vacunación cuando mucho tienen como resultado una enfermedad menos grave al momento que el individuo se reinfecta, pero en ocasiones la hipersensibilización acompañante agrava la inflamación y la cicatrización (p. ej., en el tracoma).

Clasificación

Las clamidias se clasifican según su potencial patógeno, espectro de hospedadores, diferencias antigénicas y otros métodos. Se han clasificado tres especies que infectan a los seres humanos (cuadro 27-1).

CUADRO 27-1 Características de las clamidias

	Chlamydia trachomatis	*Chlamydia pneumoniae*	*Chlamydia psittaci*
Morfología de inclusión	Redonda, vacuolar	Redonda, densa	Grande, forma variable, densa
Inclusiones en glucógeno	Sí	No	No
Morfología de los cuerpos elementales	Redonda	Forma de pera, redonda	Redonda
Susceptibilidad a sulfonamidas	Sí	No	No
Plásmidos	Sí	No	Sí
Serovariedades	15	1	≥ 4
Hospedador natural	Seres humanos	Seres humanos, animales	Aves
Modo de transmisión	De persona a persona, madre a hijo	Vía aérea de persona a persona	Heces fecales de aves por vía aérea a seres humanos
Enfermedades principales	Tracoma, STD, neumonía infantil, linfogranuloma venéreo	Neumonía, bronquitis, faringitis, sinusitis	Psitacosis, neumonía, fiebre de origen desconocido

STD, enfermedades de transmisión sexual.

A. *Chlamydia trachomatis*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas compactas que contienen glucógeno. Por lo general es inhibida por las sulfonamidas. Comprende a microorganismos que causan enfermedades en el ser humano como tracoma, conjuntivitis por inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, cervicitis, neumonitis de lactantes y LGV.

B. *Chlamydia pneumoniae*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas que carecen de glucógeno. Por lo general es resistente a las sulfonamidas. Genera infecciones respiratorias en los seres humanos.

C. *Chlamydia psittaci*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas difusas que carecen de glucógeno; por lo general es resistente a las sulfonamidas. Comprende a los microorganismos causales de psitacosis en el ser humano, ornitosis en las aves, neumonitis felina y otras enfermedades de animales.

INFECCIONES OCULARES, GENITALES Y RESPIRATORIAS POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

El ser humano es el hospedador natural de *C. trachomatis*. Este microorganismo también produce infecciones oculares y genitales en los monos y chimpancés; también se replica en las células de cultivos hísticos. Las distintas serovariedades de *C. trachomatis* se replican de manera distinta. Las cepas aisladas de tracoma no proliferan con la misma facilidad que las del linfogranuloma venéreo o infecciones genitales. La replicación intracitoplásmica tiene como resultado la formación de inclusiones compactas con una matriz de glucógeno en la que se incrustan cuerpos elementales.

TRACOMA

El tracoma es una enfermedad ocular antigua, que se describe con detalle en el papiro de Ebers, escrito en Egipto hace 3 800 años. Es una queratoconjuntivitis crónica que empieza con cambios inflamatorios agudos en la conjuntiva y córnea, y degenera en cicatrización y ceguera. El tracoma clínico es producido por las serovariedades A, B, Ba y C de *C. trachomatis*.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de la infección conjuntival por clamidia es de tres a 10 días. En las regiones endémicas, la infección inicial se produce durante la infancia y la aparición de la consecuencia a largo plazo, tracoma, es insidiosa. En las regiones endémicas por lo general la clamidiosis se mezcla con conjuntivitis bacteriana y ambas producen las manifestaciones clínicas. Los primeros síntomas de tracoma son lagrimeo, secreción mucopurulenta, hiperemia conjuntival e hipertrofia folicular. El examen microscópico de la córnea revela queratitis epitelial, infiltrados subepiteliales y extensión de los vasos del limbo hasta la córnea (paño corneal). Conforme el paño se extiende en sentido inferior a través de la córnea, se produce cicatrización de la conjuntiva, deformidades de los párpados (entropión, triquiasis) y una mayor agresión causada por las pestañas al cepillar la córnea (triquiasis). Con la infección bacteriana secundaria, el sujeto pierde la vista en un periodo de varios años. Sin embargo, no existen signos o síntomas generalizados de esta infección. La OMS publicó un sistema de gradación para la valoración del tracoma (consúltese la ficha de Batteiger y Tan)

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio de las clamidiosis se describe también en el capítulo 47.

A. Cultivo

Las inclusiones citoplásmicas típicas se observan en las células epiteliales de la muestra obtenida por raspado conjuntival teñida con anticuerpos fluorescentes o con el método de Giemsa. Éstos aparecen con mayor frecuencia durante la primera fase de la enfermedad y en la conjuntiva del tarso superior.

La inoculación de las muestras conjuntivales en cultivo de células de McCoy tratadas con cicloheximida permite la proliferación de *C. trachomatis* siempre y cuando el número de partículas infecciosas viables sea suficiente. La centrifugación del cultivo en células incrementa la sensibilidad del método. En ocasiones es posible establecer el diagnóstico durante la primer etapa después de dos o tres días de incubación buscando inclusiones por medio de inmunofluorescencia o tiñendo la muestra con yodo o colorante de Giemsa.

B. Serología

Los individuos infectados a menudo producen anticuerpos específicos tanto de grupo como de serovariedad en el suero y las secreciones oculares. El método más sensible para detectarlos es la inmunofluorescencia. Ni los anticuerpos oculares ni los séricos confieren resistencia significativa contra la reinfección.

C. Métodos moleculares

En los países subdesarrollados, donde el tracoma es endémico, no suelen existir los recursos suficientes para aplicar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) ni otros métodos moleculares para el diagnóstico de la infección ocular por *C. trachomatis*. En los países desarrollados el tracoma es relativamente raro y la necesidad de contar con estas pruebas es mínima. Por lo tanto, los métodos moleculares que se han creado son para el diagnóstico de las infecciones genitales. Sólo en los proyectos de investigación se ha utilizado la PCR en estudios de tracoma.

Tratamiento

Los estudios clínicos realizados en pueblos con tracoma endémico utilizando el tratamiento en masa con azitromicina demuestran que tanto la infección como la enfermedad clínica disminuyen de manera considerable seis y 12 meses después del tratamiento; esto es verdadero incluso con una sola dosis. Por lo tanto, la azitromicina ha sustituido a la eritromicina y doxiciclina en el tratamiento en masa del tracoma endémico. El tratamiento tópico tiene muy poca utilidad.

Epidemiología y control

Se cree que más de 400 millones de personas en el mundo padecen de tracoma y 20 millones son ciegos a causa de esta enfermedad, la cual es más prevalente en el África subsahariana, Asia y la cuenca del Mediterráneo, donde la higiene es deficiente y el agua escasa. En estas regiones hiperendémicas, la infección infantil es quizá universal y es frecuente la enfermedad grave que causa ceguera (como resultado de la superinfección bacteriana). En Estados Unidos, el tracoma es esporádico en algunas regiones y existen algunos focos endémicos.

La OMS ha iniciado el programa S-A-F-E para eliminar el tracoma que causa ceguera y reducir de manera considerable la enfermedad activa desde el punto de vista clínico. El programa S-A-F-E (por sus siglas en inglés) es como sigue: cirugía (*Surgery*) para los párpados deformados; tratamiento periódico con *A*zitromicina; lavado e higiene de la cara (*Face*); y mejoramientos ambientales (*Environmental)*, como construcción de letrinas y reducción del número de moscas que se alimentan de exudados conjuntivales. Es claro que al mejorar el contexto socioeconómico, el tracoma endémico irá desapareciendo.

INFECCIONES GENITALES POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* Y CONJUNTIVITIS DE INCLUSIÓN

Las serovariedades D-K de *C. trachomatis* causan enfermedades de transmisión sexual, en especial en los países desarrollados, y en ocasiones también infecciones oculares (conjuntivitis de inclusión). En los varones con vida sexual activa, *C. trachomatis* causa **uretritis no gonocócica** y, en ocasiones, **epididimitis**. En la mujer, *C. trachomatis* causa **uretritis**, **cervicitis** y **enfermedad inflamatoria pélvica**, que provoca **esterilidad** y predispone al **embarazo ectópico**. Los varones y mujeres pueden presentar proctitis y proctocolitis, si bien esas infecciones son más frecuentes en varones que tienen relaciones sexuales con otros varones. La infección en cualquiera de estos sitios anatómicos origina signos y síntomas o puede ser asintomática, pero contagiosa para las parejas sexuales. Hasta 50% de las uretritis no gonocócicas (varones) y de los síndromes uretrales (mujeres) se atribuye a clamidia y se acompaña de disuria, secreción no purulenta y frecuencia urinaria. En ocasiones las secreciones genitales de los adultos infectados son inoculadas por la misma persona en la conjuntiva, provocando conjuntivitis de inclusión, que es una infección ocular muy similar al tracoma agudo.

El recién nacido adquiere la infección al atravesar el canal del parto infectado. Quizá entre 30 y 50% de los hijos de mujeres infectadas adquieren la infección; entre 15 y 20% de los lactantes infectados manifiestan síntomas oculares y entre 10 y 40% manifiesta síntomas respiratorios. La **conjuntivitis de inclusión del recién nacido** empieza como conjuntivitis mucopurulenta cinco a 12 días después del parto; tiende a disminuir con eritromicina o tetraciclinas o bien de manera espontánea después de varias semanas o meses. En ocasiones persiste como clamidiosis crónica con manifestaciones clínicas idénticas al de un tracoma infantil subagudo o crónico en una región no endémica y sin conjuntivitis bacteriana.

Diagnóstico de laboratorio

A. Recolección de muestras

El factor más importante para establecer el diagnóstico de laboratorio de una clamidiosis es la recolección adecuada de la muestra. Las clamidias son bacterias intracelulares estrictas, por lo que es importante que las muestras contengan células humanas infectadas y el material extracelular que también pudiera contener la bacteria. Es necesario reunir las muestras endocervicales y eliminar las secreciones y otros materiales del cuello uterino. Para raspar las células epiteliales a 1 o 2 cm de profundidad del endocérvix se utiliza un hisopo o un cepillo para citología. Es necesario usar material de dacrón, algodón o rayón sobre un mango de plástico para reunir la muestra, pues son tóxicos para las clamidias otros materiales del aplicador (alginato de calcio) y los mangos de madera. Se utiliza un método similar para reunir muestras de vagina, uretra y conjuntiva. Las marcas comerciales para el diagnóstico de clamidias sin cultivo no necesitan microorganismos viables. En términos generales, tales métodos comerciales incluyen los aplicadores para reunir muestras y tubos de transporte, que son idóneos para las pruebas específicas, según se ha demostrado. En el caso del cultivo habrá que colocar las muestras obtenidas con aplicador en un medio para transporte de clamidias como fosfato 2-sacarosa complementado con suero bovino y antibióticos que inhiban la microbiota normal, y se conservarán a temperatura de refrigeración antes de transportarlas al laboratorio.

En la orina cabe buscar la presencia de ácido nucleico de clamidias. Se reunirán únicamente los primeros 20 ml de la micción, porque un volumen mayor de orina vesical diluiría la fracción inicial que pasó por la uretra, situación que podría originar negatividad de la prueba, a causa de la dilución.

B. Detección de ácido nucleico

Técnicas de sondas sin amplificación. En un método de hibridación de ácido nucleico, una sonda de DNA hibridiza una secuencia específica del rRNA 16S de *C. trachomatis*; las clamidias tienen incluso 10^4 copias del rRNA 16S y una vez que se forman los híbridos son absorbidos en cuentas y se cuantifica por quimioluminiscencia la cantidad del híbrido. En Estados Unidos ya no se dispone en el comercio de tal técnica. Otra técnica de hibridación ha utilizado sondas de RNA para detectar secuencias de DNA de clamidias. La sensibilidad y especificidad generales de estos métodos son satisfactorias, pero no tienen la misma calidad que la amplificación con ácido nucleico (NAAT; *nucleic acid amplification tests*). Sin embargo, las técnicas de cuantificación de hibridación son menos caras que NAAT.

Pruebas de amplificación de ácido nucleico. NAAT son los métodos más indicados para el diagnóstico de infecciones genitales por *C. trachomatis*. En Estados Unidos, la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) ha aprobado, como mínimo, cinco técnicas. Utiliza diversos métodos moleculares orientados al plásmido críptico de *C. trachomatis* o 23SrRNA que incluyen PCR, desplazamiento de la cadena, y amplificación mediada por transcripción. Las técnicas mencionadas se han utilizado ampliamente y han sustituido a muchos de los

apter 27_Carroll_4R.indd 355 14/04/16

métodos sin amplificación. Son muy sensibles y específicos, pero no son perfectos. Es posible comparar nuevas técnicas para el diagnóstico de infección por clamidias con los resultados combinados de dos NAAT como estándar de referencia.

Los tipos de muestras que son adecuadas para estudio por medio de NAAT incluyen la primera fracción de la orina de la mañana de varones y mujeres, así como el material vaginal, cervical y uretral obtenido con aplicadores. Algunas de las compañías comerciales que distribuyen estas plataformas se encuentran en la fase de validar sus procesos o poseen fuentes extragenitales validadas, como muestras de conjuntiva, orofaríngeas o rectales. Los métodos de detección de ácido nucleico han sido adaptados para detectar simultáneamente *Neisseria gonorrhoeae*.

C. Examen citológico directo (anticuerpo por fluorescencia directa) y enzimoinmunoensayos

En el comercio se cuenta todavía con métodos de anticuerpos fluorescentes directos (DFA, *direct fluorescent antibody*), y enzimoinmunoensayos (EIA, *enzyme-linked immunoassay*) para detectar *C. trachomatis*. El primero utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno con especificidad de especie en MOMP de clamidia. El segundo detecta la presencia de antígenos específicos de género extraídos de EB en la muestra. DFA sigue siendo útil para detectar clamidias en muestras extragenitales como las obtenidas de conjuntiva por aplicador. Por su escasa sensibilidad y el hecho de que se dispone ampliamente de NAAT más sensibles, EIAs están en fase de sustitución como métodos aceptables para el cribado de clamidias y gonorrea.

D. Cultivo

Desde el punto de vista histórico se ha utilizado el cultivo de *C. trachomatis* para diagnosticar clamidiosis. Sin embargo, los cultivos son caros y difíciles. Los resultados se obtienen tardíamente en comparación con la rapidez con que se practica NAAT y otros métodos. Los cultivos por lo regular son mucho menos sensibles que NAAT y el grado de menor sensibilidad depende en gran medida del método utilizado. En la actualidad los cultivos se hacen en un número escaso de laboratorios especializados. Se utiliza un corto número de líneas celulares susceptibles, muy a menudo McCoy, HeLa 229 o HEp-2. Las células crecen en monocapas en cubreobjetos en dracma o en pequeños viales de concha.

Algunos laboratorios utilizan charolas para microdilución de fondo plano, pero los cultivos por medio de este método no son tan sensibles como los del método con viales de concha. Las celulas se tratan con cicloheximida para inhibir su metabolismo y aumentar la sensibilidad del aislamiento de clamidia. El inóculo de la muestra obtenida por medio de hisopos se centrifuga en una monocapa y se incuba de 35 a 37 °C durante 48 a 72 h. Se puede inocular una segunda monocapa después de la incubación, que se somete a ultrasonido y se pasa a otra monocapa para aumentar la sensibilidad. Las monocapas se examinan por medio de inmunofluorescencia directa para observar las inclusiones citoplásmicas. Los cultivos de clamidia por medio de este método tienen una sensibilidad aproximada de 80% pero una especificidad de 100 por ciento.

E. Serología

En vista del volumen antigénico relativamente grande de clamidia en las infecciones genitales, los anticuerpos séricos son mucho más frecuentes que en el tracoma y su concentración es mayor. Durante la clamidiosis aguda o después de ésta, la concentración de anticuerpos se eleva. A causa de la prevalencia tan elevada de infecciones genitales por clamidia en algunas sociedades, la población tiene antecedentes importantes de anticuerpos anticlamidia; las pruebas serológicas para diagnosticar infecciones genitales por clamidia no suelen ser de utilidad.

En las secreciones genitales (p. ej., cervicales) se pueden detectar anticuerpos durante la infección activa y éstos se dirigen contra el inmunotipo causal (serovariedad).

Tratamiento

Es muy importante que la clamidiosis se trate simultáneamente tanto en el paciente como en su pareja, además de su descendencia para prevenir la reinfección. En la uretritis no gonocócica y en las mujeres no embarazadas por lo general se utilizan tetraciclinas (p. ej., doxiciclina). La azitromicina es eficaz y se puede administrar en mujeres embarazadas. En las infecciones neonatales por *N. gonorrhoeae* se utilizan tetraciclinas o eritromicina tópicas, pero éstas no previenen en forma efectiva las infecciones neonatales por *C. trachomatis*. El tratamiento sistémico también se debe utilizar en la conjuntivitis por inclusión porque el tratamiento tópico no siempre cura las infecciones oculares ni previene la infección respiratoria.

Epidemiología y control

La infección genital por clamidia y la conjuntivitis por inclusión constituyen enfermedades de transmisión sexual que se diseminan por el contacto con una pareja infectada. La conjuntivitis neonatal por inclusión se origina en el aparato genital infectado de la madre. Para prevenir los problemas oculares neonatales es necesario diagnosticar y tratar a la mujer embarazada y su pareja sexual. Al igual que en las demás enfermedades de transmisión sexual, se debe descartar la presencia de otras causas (gonococo, treponema, tricomonas, herpes). La administración de eritromicina o tetraciclina en los ojos del recién nacido no previene una conjuntivitis por clamidia. Para contener esta enfermedad de transmisión sexual (y muchas otras) es importante practicar el sexo seguro y diagnosticar y tratar de manera oportuna a las personas infectadas. En Estados Unidos, para lograr tal meta, los *Centers for Disease Control and Prevention* recomiendan realizar una prueba de detección anual en todas las mujeres de 25 años y menores, sexualmente activas.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEUMONÍA NEONATAL

De los recién nacidos que son infectados por sus madres, entre 10 y 20% manifiesta problemas respiratorios dos a 12 semanas después del nacimiento, que culminan en neumonía. Los recién nacidos afectados muestran obstrucción o secreciones de vías nasales, taquipnea notable, una tos característica

paroxística entrecortada, ausencia de fiebre, y además eosinofilia. En las radiografías se advierten infiltrados intersticiales e hiperinflación.

El diagnóstico se sospecha en caso de neumonía en un recién nacido con conjuntivitis de inclusión y se establece aislando a *C. trachomatis* de las secreciones respiratorias. En caso de neumonía neonatal, la concentración de anticuerpos IgM contra *C. trachomatis* de 1:32 o más se considera diagnóstica. Se recomienda utilizar eritromicina por vía oral durante 14 días; la eritromicina sistémica es eficaz en casos graves.

LINFOGRANULOMA VENÉREO

El linfogranuloma venéreo es una enfermedad de transmisión sexual causada por *C. trachomatis* que se caracteriza por adenitis inguinal supurativa; predomina en los climas tropicales.

Propiedades del microorganismo

Las partículas contienen antígeno fijador de complemento termoestable del grupo clamidia compartido por las demás clamidias. Además contienen uno de los tres antígenos de servariedades (L1-L3), que se definen por medio de inmunofluorescencia.

Manifestaciones clínicas

Varios días o semanas después del contacto, aparece una pequeña pápula o vesícula en cualquier parte de los genitales externos, ano, recto u otro sitio. Algunas veces la lesión se ulcera pero por lo general permanece inadvertida y cicatriza en unos cuantos días. Días a semanas después se agrandan los ganglios linfáticos regionales, tienden a coalecer y son dolorosos. En los varones, los ganglios inguinales son los que suelen hipertrofiarse tanto arriba como debajo del ligamento de Poupart y la piel que los cubre adquiere color púrpura conforme los ganglios supuran (formación de bubón) y finalmente descargan pus a través de múltiples túneles fistulosos. En las mujeres y varones homosexuales, por lo general se hipertrofian los ganglios perirrectales con proctitis y secreción mucopurulenta hemática por vía anal. Durante la fase de linfadenitis activa, suele acompañarse de síntomas generales como fiebre, cefalea, meningismo, conjuntivitis, eritemas cutáneos, naúsea, vómito y artralgias. En raras ocasiones aparece meningitis, artritis y pericarditis. A menos que se instituya un tratamiento antimicrobiano eficaz durante esta fase, el proceso inflamatorio crónico degenera en fibrosis, obstrucción linfática y estenosis rectal. La obstrucción linfática provoca elefantiasis del pene, escroto o vulva. La proctitis crónica en mujeres o varones homosexuales causa estenosis rectales progresivas, obstrucción rectosigmoidea y formación de fístulas.

Diagnóstico por laboratorio

A. Frotis

Es posible teñir pus, bubones y material obtenido por biopsia, pero rara vez se identifican partículas.

B. Métodos de amplificación de ácido nucleico

Todos los métodos comerciales de NAAT detectan los serotipos de LGV, pero no las diferencian de otros serotipos de *C. trachomatis*.

C. Cultivo

El material sospechoso se inocula en cultivos de células de McCoy. Se agrega algún aminoglucósido (pero no penicilina) al inóculo para reducir la contaminación bacteriana. El microorganismo se identifica por medio de pruebas morfológicas y serológicas.

D. Serología

Por lo general se demuestra la presencia de anticuerpos por medio de CF. Esta prueba se torna positiva entre dos y cuatro semanas después de iniciada la enfermedad. En un caso compatible desde el punto de vista clínico, la elevación progresiva de los anticuerpos o una sola concentración mayor de 1:64 constituye evidencia suficiente de infección activa. Cuando el tratamiento erradica el linfogranuloma venéreo, la concentración por CF desciende. Para el diagnóstico serológico del LGV también se utiliza la inmunofluorescencia, pero el anticuerpo reacciona con numerosos antígenos de clamidia.

Inmunidad

Las infecciones sin tratamiento tienden a la cronicidad, con persistencia del microorganismo durante muchos años. Se sabe muy poco sobre la inmunidad activa. La coexistencia de infección latente, anticuerpos y reacciones celulares es típica de muchas clamidiosis.

Tratamiento

Se han utilizado tanto sulfonamidas como tetraciclinas con buenos resultados, en especial durante las primeras fases. En algunas personas que han recibido medicamentos, los anticuerpos fijadores de complemento descienden, lo que indica que el microorganismo infeccioso ya se eliminó del cuerpo. Las fases más avanzadas necesitan cirugía.

Epidemiología y control

La mayor frecuencia de LGV se observa en las regiones subtropicales y tropicales, pero esta infección es mundial. Casi siempre se transmite por contacto sexual, pero no es exclusivo. En algunos casos la vía de entrada es el ojo (conjuntivitis con un síndrome oculoglandular). El aparato genital y el recto de las personas con una infección crónica (pero en ocasiones asintomática) sirven como reservorios de la infección. El personal de laboratorio que tiene contacto con aerosoles de *C. trachomatis* serovariedades L1-L3, padece en ocasiones de una neumonitis por clamidia con adenopatía mediastinal e hiliar. Si se diagnostica la infección, el tratamiento con tetraciclina o eritromicina es eficaz.

Las medidas utilizadas para contener otras enfermedades de transmisión sexual también aplican en el caso del linfogranuloma venéreo. Es indispensable identificar los casos, administrar tratamiento oportuno y tener control sobre las personas infectadas.

apter 27_Carroll_4R.indd 357 14/04/16

CHLAMYDIA PNEUMONIAE E INFECCIONES RESPIRATORIAS

La primera cepa de *C. pneumoniae* se obtuvo en la decenio de 1960 en cultivo de saco vitelino de embrión de pollo. Una vez que se crearon los métodos de cultivo celular, se creía que esta cepa inicial era miembro de la especie de *C. psittaci*. Más tarde, *C. pneumoniae* se ha establecido como una especie nueva que causa enfermedad del aparato respiratorio en especies humanas y no humanas.

Propiedades del microorganismo

C. pneumoniae produce inclusiones redondas, densas y sin glucógeno que son resistentes a las sulfonamidas, muy similares a *C. psittaci* (cuadro 27-1). En ocasiones los cuerpos elementales adquieren forma de pera. La afinidad genética de las cepas aisladas de *C. pneumoniae* es mayor de 95%. Sólo se ha demostrado un serotipo

Manifestaciones clínicas

La mayor parte de las infecciones por *C. pneumoniae* es asintomática o causa una enfermedad leve, pero también se han publicado algunos casos de enfermedades graves. No existen signos o síntomas que permitan distinguir de manera específica la infección por *C. pneumoniae* de la que causan muchos otros microorganismos. Se acompaña de problemas de las vías respiratorias tanto superiores como inferiores. Con frecuencia se trata de faringitis. Otras veces son sinusitis y otitis media acompañadas de problemas de las vías respiratorias inferiores. La enfermedad primaria que se diagnostica con mayor frecuencia es una neumonía atípica similar a la que causa *Mycoplasma pneumoniae*. La proporción de casos de neumonía de origen comunitario causados por *C. pneumoniae* varía en las publicaciones, de 0 a 40%, pero al parecer es menor en algunas series más recientes (menor a cinco por ciento).

Diagnóstico por laboratorio

A. Frotis

La detección directa de cuerpos elementales en muestras clínicas utilizando técnicas de anticuerpos fluorescentes es insensible. Otras tinciones no permiten demostrar de manera eficaz el microorganismo.

B. Cultivo

Las muestras obtenidas de la faringe con hisopo, se colocan en un medio para transportar clamidia a 4 °C; *C. pneumoniae* se desactiva rápidamente a temperatura ambiente. Prolifera muy poco en cultivos celulares, formando inclusiones más pequeñas que la de otras clamidias. *C. pneumoniae* crece mejor en células HL y HEp-2 que en células HeLa 229 o células de McCoy; las células de McCoy se utilizan mucho para cultivar *C. trachomatis*. La sensibilidad del cultivo aumenta incorporando cicloheximida al medio de cultivo celular para inhibir el metabolismo de las células eucariotas y centrifugando el inóculo en la capa celular. El crecimiento es mejor a 35 que a 37 °C. Después de una incubación de tres días, las células se fijan y las inclusiones se detectan por medio de tinción de anticuerpos fluorescentes con anticuerpos específicos para el género o la especie o, de preferencia, con un anticuerpo monoclonal específico para *C. pneumoniae* conjugado con fluoresceína. La tinción de Giemsa es insensible y las inclusiones sin glucógeno no se tiñen con yodo. Es más o menos difícil cultivar *C. pneumoniae*, lo que se demuestra por el número de cepas aisladas descritas comparado con la incidencia de la infección.

C. Serología

El método más sensible para diagnosticar infección por *C. pneumoniae* es la serología con pruebas de microinmunofluorescencia. Esta prueba es específica para cada especie y permite detectar anticuerpos IgG o IgM utilizando los reactivos correspondientes. La infección primaria provoca la formación de anticuerpos IgM después de tres semanas seguidas de anticuerpos IgG a las seis u ocho semanas. En la reinfección, la respuesta de IgM es ausente o mínima y la respuesta de IgG comienza una a dos semanas después. Se han sugerido los criterios siguientes para el diagnóstico serológico de infección por *C. pneumoniae:* una sola concentración de IgM ≥ 1:16; una sola concentración de IgG ≥ 1:512; y una elevación cuatro veces mayor en la concentración de IgM o IgG.

La fijación del complemento se puede utilizar, pero reacciona por grupo y no permite distinguir entre una infección por *C. pneumoniae* y una psitacosis o un linfogranuloma venéreo y es menos sensible que la microinmunofluorescencia.

D. Métodos de amplificación de ácido nucleico

Aunque innumerables laboratorios de investigación y especializados han intentado crear genes con especificidad de acción en moléculas como el gen 16SrRNA y el gen *ompA*, entre otros, los intentos han sido entorpecidos por no contar con un método de referencia confiable. Sin embargo, en fecha reciente la empresa BioFire Diagnostics, Inc. (Salt Lake City, UT) recibió la aprobación de FDA para la adición de *C. pneumoniae* a su conjunto de técnicas para diagnóstico de trastornos respiratorios (FilmArray Respiratory).

Se necesitan métodos de ese tipo para conocer en detalle la contribución verdadera de *C. pneumoniae* a la enfermedad clínica.

Inmunidad

Se sabe muy poco sobre la inmunidad activa o la inmunidad potencialmente protectora. En ocasiones *C. pneumoniae* causa infecciones prolongadas y los portadores asintomáticos probablemente son bastante frecuentes.

Tratamiento

C. pneumoniae es sensible a los macrólidos y tetraciclinas, además de algunas fluoroquinolonas. Al parecer el tratamiento con doxiciclina, azitromicina o claritromicina, levofloxacina o moxifloxacina es bastante efectivo en pacientes con infección por *C. pneumoniae,* pero la información sobre la eficacia de los antibióticos es muy limitada. Las publicaciones indican que los síntomas persisten o recurren después de un esquema tradicional de tratamiento con eritromicina, doxiciclina o tetraciclina y estos fármacos se deben administrar durante 10 a 14 días.

Epidemiología

La infección por *C. pneumoniae* es frecuente. En el mundo, entre 30 y 50% de las personas tiene anticuerpos contra *C. pneumoniae.* Muy pocos niños pequeños tienen anticuerpos, pero después de los seis a ocho años, la prevalencia de los anticuerpos aumenta hasta la madurez. La infección es tanto endémica como epidémica y se han atribuido varios brotes a *C. pneumoniae.* No se conoce un reservorio animal y se supone que se transmite de persona a persona, principalmente por vía aérea.

Las líneas de evidencia que sugieren que *C. pneumoniae* está asociada con la coronariopatía aterosclerótica y la enfermedad vascular cerebral, consta de estudios seroepidemiológicos, detección de *C. pneumoniae* en tejido aterosclerótico, estudios con cultivos celulares, modelos animales y estudios clínicos sobre prevención con antibióticos. Sin embargo, en otros estudios no se ha demostrado asociación. La posible relación existente entre la infección por *C. pneumoniae* y la coronariopatía sigue siendo controversial.

CHLAMYDIA PSITTACI Y PSITACOSIS

El término *psitacosis* se aplica a la enfermedad por *C. psittaci* en seres humanos adquirida por el contacto con aves y además a la infección psitaciforme (pericos, periquitos, cacatúas, etc.). El término o*rnitosis* se aplica a la infección por microorganismos similares en cualquier tipo de ave doméstica (palomas, pollos, patos, gansos, pavos, etc.) y aves silvestres (gaviotas, garzas, petreles, etc.). En los seres humanos, *C. psittaci* genera un espectro de manifestaciones clínicas que varían desde neumonía grave con septicemia y una mortalidad elevada hasta una infección leve y oculta.

Propiedades del microorganismo

C. psittaci se propaga en huevos con embrión, ratones y otros animales, así como en algunos cultivos celulares. El antígeno fijador de complemento con reacción a grupo y termoestable es resistente a las enzimas proteolíticas y al parecer es un lipopolisacárido. El tratamiento de la infección por *C. psittaci* con desoxicolato y tripsina arroja extractos que contienen antígenos fijadores del complemento y reaccionan a grupo, mientras que las paredes celulares contienen el antígeno específico de especie. Los anticuerpos contra el antígeno específico de especie pueden neutralizar su toxicidad y potencial infeccioso. La tipificación por inmunofluorescencia permite demostrar algunas serovariedades específicas para ciertas especies de mamíferos y aves. Asimismo, se puede utilizar la neutralización del potencial infeccioso del microorganismo por medio de anticuerpos específicos o la protección cruzada de animales vacunados para la serotipificación; los resultados son similares a los de la tipificación por inmunofluorescencia.

Patogenia y anatomía patológica

El microorganismo entra a través del aparato respiratorio, aparece en la sangre en las primeras dos semanas de la enfermedad y en el esputo una vez que penetra en los pulmones.

La psitacosis provoca inflamación con forma de placas de los pulmones donde se delimitan las áreas consolidadas. Los exudados son básicamente mononucleares. En los bronquiolos y bronquios los cambios son mínimos. Las lesiones son similares a las que se observan en la neumonitis causada por ciertos virus y micoplasmas. Con frecuencia el hígado, bazo, corazón y riñones se encuentran hipertróficos y congestionados.

Manifestaciones clínicas

La aparición repentina de una enfermedad similar a la influenza (gripe) o a una neumonía no bacteriana en una persona que tiene contacto con aves sugiere la posibilidad de psitacosis. El periodo de incubación en promedio es de 10 días. El comienzo por lo común es repentino, pero puede ser insidioso, e incluye malestar general, fiebre, anorexia, faringitis, fotofobia y cefalea intensa. Es posible que la enfermedad ya no evolucione más y en cuestión de días el paciente mejore. En casos graves los signos y los síntomas de neumonía bronquial aparecen al finalizar la primera semana de la enfermedad. El cuadro clínico suele recordar al de la influenza, la neumonía no bacteriana o la fiebre tifoidea. El índice de mortalidad puede llegar a 20% en casos no tratados, especialmente en ancianos.

Diagnóstico por estudios de laboratorio

A. Cultivo

El cultivo de *C. psittaci* es peligroso y se prefiere detectar el microorganismo por las inmunocuantificaciones o por medio de PCR. Si es necesario se cultiva en sangre o esputo para detectar *C. psittaci* o de tejido pulmonar, por cultivo en células de cultivo tisular, embriones de aves (pollo) o ratones, en un laboratorio cuyo nivel de bioseguridad sea 3. El aislamiento de *C. psittaci* se confirma por transmisión seriada, demostración microscópica o identificación serológica.

B. Detección del antígeno de *Chlamydia psittaci*

La detección de antígenos por medio de tinción con anticuerpos fluorescentes directos (DFA, *direct fluorescent antibody*) o por inmunoanálisis o diagnóstico molecular por PCR se lleva a cabo en laboratorios especializados o de investigación.

C. Serología

El diagnóstico de psitacosis suele confirmarse al demostrar la presencia de anticuerpos fijadores de complemento o microinmunofluorescentes en muestras de suero. Un caso confirmado es aquél con un cultivo positivo o con manifestaciones clínicas compatibles y aumento cuatro veces mayor en la concentración de anticuerpos de cuando menos 1:32 o una concentración de IgM por microinmunofluorescencia de al menos 1:16. Un caso probable es una enfermedad compatible vinculada desde el punto de vista epidemiológico con un caso confirmado o una concentración cuando menos de 1:32 en una sola muestra. La fijación del complemento tiene reacciones cruzadas con *C. trachomatis* y *C. pneumoniae.* La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) es más sensible y específica que la fijación del complemento, pero algunas veces se producen reacciones cruzadas. La MIF permite detectar IgM e IgG. Si bien los anticuerpos suelen aparecer en los primeros 10 días, los antibióticos retrasan su aparición entre 20 y 40 días o incluso los suprimen por completo.

En las aves vivas, la infección se sospecha por una fijación del complemento positiva y hepatomegalia o esplenomegalia; esto se confirma demostrando la presencia de partículas en frotis o biopsias de órganos y al transmitir el microorganismo a ratones y huevos.

D. Métodos moleculares

Se han diseñado numerosos análisis con PCR para detectar *C. psittaci* en muestras del aparato respiratorio, tejido vascular, suero y células mononucleares de sangre periférica. Estas pruebas se llevan a cabo en laboratorios especializados o de investigación.

Inmunidad

La inmunidad en animales y seres humanos es incompleta. El estado de portador en el hombre persiste hasta 10 años después de la recuperación. Durante este periodo, el microorganismo se sigue excretando en el esputo.

Las vacunas con microorganismos vivos o inactivos inducen únicamente resistencia parcial en los animales. No se han utilizado en seres humanos.

Tratamiento

En vista de la dificultad para confirmar la infección por *C. psittaci* por medio de pruebas de laboratorio, la mayor parte de la infecciones se trata sólo con base en el diagnóstico clínico. La información sobre la eficacia terapéutica proviene de varios estudios clínicos. Los fármacos preferidos para el tratamiento son doxiciclina y tetraciclina, y como alternativas se pueden usar macrólidos y fluoroquinolonas.

Epidemiología y control

Los brotes en seres humanos ocurren cuando existe contacto cercano y continuo entre personas y aves infectadas que excretan o desechan grandes cantidades de microorganismo infeccioso. Las aves a menudo adquieren la infección durante su etapa de polluelos en el nido, padecen diarrea o no y a menudo transportan el microorganismo durante toda su vida normal. Cuando se someten a algún estrés (p. ej., desnutrición, embarques), las aves enferman y mueren. El microorganismo se encuentra en los tejidos (p. ej., bazo) y suele ser excretado en las heces fecales de las aves sanas. Uno de los métodos más frecuentes de contagio para el ser humano es la inhalación de las heces fecales secas de las aves. Otro método de infección es manejar tejidos infectados (p. ej., en plantas de producción de aves) y por la inhalación de un aerosol infectado.

Las aves que se tienen como mascotas también constituyen una fuente importante de infección para el ser humano. Las más importantes eran las aves psitácidas importadas. Las infecciones latentes se manifestaban en estas aves durante el transporte y el hacinamiento, y las aves enfermas excretaban cantidades excesivas del microorganismo infeccioso. La regulación del embarque de aves, las cuarentenas y las pruebas de las aves importadas en busca de psitacosis, así como las tetraciclinas profilácticas en los alimentos para aves han ayudado a contener esta fuente. Las palomas que se crían para competencias (carreras), como mascotas o por su carne, han sido fuente importante de infección. Las palomas que viven en los edificios y vías públicas de muchas ciudades, si están infectadas, desechan cantidades relativamente pequeñas del microorganismo.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- *Chlamydiae* son microorganismos pequeños que se multiplican en el citoplasma de las células hospedadoras y para ello se valen de ciclos bifásicos peculiares de desarrollo.
- EB es la partícula infectante estable en el entorno. RB es la forma metabólicamente activa que se divide por fisión binaria dentro de una vacuola recubierta de membrana.
- Se conocen tres especies de *Chlamydia* que causan enfermedad en humanos: *C. trachomatis, C. pneumoniae* y *C. psittaci.*
- *C. trachomatis* ocasiona enfermedades de transmisión sexual que incluyen cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica, uretritis, epididimitis, LGV y proctitis; cuando se transmite a lactantes de las embarazadas infectadas causa conjuntivitis de inclusión y neumonía eosinófila.
- El diagnóstico de infecciones urogenitales por *C. trachomatis* se confirma fácilmente por medio de NAAT; para el diagnóstico de síndromes en niños se necesita cultivo o DFA. El tratamiento de infecciones causadas por *C. trachomatis* obliga a usar doxiciclina o azitromicina.
- *C. pneumoniae* causa diversas infecciones de las vías respiratorias superiores e inferiores. La faringitis es común, y la neumonía atípica, semejante a la causada por *M. pneumoniae*, es responsable de aproximadamente 5% de casos de neumonía adquirida en la comunidad.
- Los estudios serológicos que utilizan MIF constituyen los métodos más sensibles para diagnosticar el ataque de *C. pneumoniae*. NAAT está disponible en laboratorios especializados y de investigación, pero hay variación en su elaboración. Se cuenta con una técnica comercial aprobada por FDA para detectar *C. pneumoniae.*
- *C. psittaci* se adquiere por contacto con aves como pericos, palomas y aves de corral domésticas.
- La psitacosis como entidad patológica tal vez sea asintomática o poco intensa, pero también se han descrito casos de neumonía grave y septicemia con una alta tasa de mortalidad.
- Para el diagnóstico se utilizan métodos serológicos, mientras que para el tratamiento, macrólidos o doxiciclina.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre los antígenos de clamidia es correcta?
   (A) Las clamidias comparten antígenos específicos de grupo o género
   (B) No existen reacciones cruzadas entre los antígenos de *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia pneumoniae*
   (C) Las cinco serovariedades de *Chlamydia pneumoniae* tienen reacciones cruzadas con *Chlamydia psittaci*
   (D) Una serovariedad de *Chlamydia trachomatis* causa infecciones oculares y otra serovariedad causa infecciones genitales

2. Las siguientes medidas forman parte de la contención de *Chlamydia psittaci* y la psitacosis en aves, *excepto*
   (A) Cuarentena de las aves psitácidas importadas hacia Estados Unidos
   (B) Permitir la venta sólo de aves psitácidas incubadas en Estados Unidos
   (C) Realizar pruebas en las aves buscando infección por *Chlamydia psittaci*
   (D) Regular el embarque de aves psitácidas
   (E) Agregar tetraciclina a los alimentos de las aves psitácidas
3. Las aseveraciones siguientes sobre la transmisión perinatal de *Chlamydia trachomatis* son correctas, *excepto*
   (A) Entre 15 y 40% de los hijos de mujeres infectadas padece conjuntivitis de inclusión
   (B) Entre 10 y 20% de los hijos de mujeres infectadas padece neumonía
   (C) El periodo de incubación de la conjuntivitis de inclusión por *Chlamydia trachomatis* es de uno a dos días
   (D) El periodo de incubación de la neumonía infantil suele ser de dos a 12 semanas
   (E) La profilaxis ocular con eritromicina o tetraciclina para la infección neonatal por *Neisseria gonorrhoeae* no suele ser eficaz contra la infección neonatal por *Chlamydia trachomatis*
   (F) La neumonía infantil por *Chlamydia trachomatis* suele acompañarse de tos entrecortada
4. Una mujer adolescente acudió a una clínica por la presencia de una secreción vaginal diferente. Recientemente había empezado a tener relaciones sexuales y dos parejas nuevas en el último mes. La exploración pélvica demostró secreción purulenta en el conducto endocervical. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre este caso es la más correcta?
   (A) No está indicado solicitar una prueba serológica de sífilis puesto que sus síntomas no corresponden a esta enfermedad
   (B) La tinción de Gram de la muestra endocervical demostraría la presencia de *Chlamydia trachomatis* dentro de células polimofomonucleares
   (C) El diagnóstico diferencial comprende infección por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis,* o ambas
   (D) En la muestra endocervical se debe buscar herpes simple
   (E) El tratamiento inicial es con ampicilina
5. Las aseveraciones siguientes sobre el tracoma son correctas, *excepto*
   (A) Aparece después de una infección ocular crónica o recurrente por *Chlamydia trachomatis*
   (B) Millones de personas en el mundo tienen tracoma
   (C) El tracoma se previene fácilmente por medio de una vacuna contra clamidia
   (D) Es posible reducir la velocidad con que avanza el tracoma por medio de un tratamiento intermitente con azitromicina
   (E) El tracoma causa cicatrización de la conjuntiva, deformidad de los párpados y lesión de la córnea por las pestañas
6. Para eliminar el tracoma que causa ceguera se necesita lo siguiente, *excepto*
   (A) Administración periódica de azitromicina
   (B) Lavarse la cara e higiene general
   (C) Detección por medio de cultivos periódicos de muestras de conjuntiva en busca de *Chlamydia trachomatis*
   (D) Mejoramientos ambientales en los sistemas de drenaje para reducir el número de moscas
   (E) Cirugía de los párpados deformados
7. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre *Chlamydophila pneumoniae* es la más correcta?
   (A) Se transmite de persona a persona por vía aérea
   (B) Produce inclusiones con abundante glucógeno que se tiñen con yodo
   (C) Existen serovariedades múltiples, incluidas tres que causan una enfermedad generalizada
   (D) Son resistentes a los macrólidos
   (E) Su reservorio es el gato casero
8. Por lo general las serovariedades de *Chlamydia trachomatis* se pueden dividir en grupos según sus infecciones clínicas y sitio anatómico infectado. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre las serovariedades de *Chlamydia trachomatis* es más correcta?
   (A) No existen reacciones cruzadas inmunológicas entre las serovariedades de *Chlamydia trachomatis* A, B, Ba y D y la serovariedad *Chlamydophila pneumoniae*
   (B) Las serovariedades L1, L2 y L3 se asocian con linfogranuloma venéreo
   (C) Las mismas serovariedades de *Chlamydia trachomatis* se asocian con tracoma que provoca ceguera e infecciones de transmisión sexual
   (D) La elevación en la concentración de anticuerpos empezando alrededor de seis a ocho años después de la infección suele ser causada por las serovariedades D-K de *Chlamydia trachomatis*
9. En Estados Unidos, desde hace tiempo se sabe que la seroprevalencia positiva para infección por *Chlamydia trachomatis* aumenta de manera considerable durante los años escolares (seis a 10 años de edad). Una explicación probable es
   (A) Las infecciones frecuentes por adenovirus
   (B) La mayor incidencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis*
   (C) Anticuerpos con reacciones cruzadas con la proteína M del estreptococo del grupo A (*Streptococcus pyogenes*)
   (D) Los niños a menudo padecen psitacosis
   (E) Infecciones frecuentes por *Chlamydia pneumoniae*
10. Las aseveraciones siguientes sobre el linfogranuloma venéreo (LGV) son correctas, *excepto*
   (A) La proctitis crónica por LGV provoca la formación de estenosis y fisuras rectales
   (B) La enfermedad es más frecuente en las latitudes del norte
   (C) Algunas veces se acompaña de síntomas generalizados pronunciados como fiebre, náusea, vómito, cefalea y meningismo
   (D) La inflamación crónica por LGV provoca obstrucción linfática
   (E) Los ganglios linfáticos inguinales se hipertrofian y endurecen, drenando pus a través de la piel
   (F) Unos cuantos días o semanas después del contacto la enfermedad se manifiesta en forma de una pápula o vesícula genital
11. De los procedimientos siguientes, ¿cuál ha sido considerado como el método diagnóstico más indicado en caso de infecciones urogenitales causadas por *Chlamydia trachomatis*?
   (A) Estudios serológicos que utilizan CF
   (B) Cultivo celular con uso de cicloheximida, que contenga células McCoy
   (C) Anticuerpos fluorescentes directos, aplicados a muestras uretrales y cervicouterinas
   (D) Métodos de amplificación de ácido nucleico
   (E) Enzimoinmunoanálisis realizados en muestras del aparato genital.

12. En Estados Unidos, los métodos de amplificación de ácido nucleico que se practican en la actualidad para el diagnóstico de infecciones por clamidias, han sido aprobados para usar en las muestras siguientes, *excepto*
   (A) Material vaginal obtenido por la misma mujer mediante hisopos
   (B) Muestras de la primera micción de la mañana obtenida en varones
   (C) Muestras rectales obtenidas con hisopo en niños de 12 años de edad o menores
   (D) Muestras uretrales obtenidas en varones adultos por medio de aplicador
   (E) Muestras cervicouterinas obtenidas con hisopo de mujeres adolescentes
13. ¿Con cuál de los cuadros causados por los microorganismos siguientes se asemeja la neumonía por *Chlamydia pneumoniae*?
   (A) *Streptococcus pneumoniae*
   (B) *Mycoplasma pneumoniae*
   (C) *Haemophilus influenzae*
   (D) *Chlamydia trachomatis*
   (E) *Rhinovirus*
14. La conjuntivitis por inclusión del recién nacido
   (A) Es una conjuntivitis mucopurulenta que surge siete a 12 días después del nacimiento
   (B) Es causado por *C. psittaci*
   (C) Es consecuencia de la exposición a aves que sirven de mascota en el hogar
   (D) Es tratado con penicilina de acción generalizada porque puede evolucionar y llegar a la neumonía
   (E) Ninguna de las anteriores
15. El método más indicado para el diagnóstico de neumonía por *C. trachomatis* en el recién nacido es
   (A) Un método por amplificación de ácido nucleico orientado al gen *ompA*
   (B) Cultivo de secreciones del aparato respiratorio en células de McCoy u otras líneas celulares
   (C) Métodos de enzimoinmunoanálisis de secreciones del aparato respiratorio
   (D) Anticuerpos IgG detectados por CF

Respuestas

1. A	5. C	9. E	13. B
2. B	6. C	10. B	14. A
3. C	7. A	11. D	15. B
4. C	8. B	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Batteiger BE, Tan M: Chapter 182, *Chlamydia trachomatis* (trachoma, genital infections, perinatal infections, and lymphogranuloma venereum). En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Gaydos C, Essig A: *Chlamydiaceae*. En: Jorgensen J, Pfaller M, Carroll KC, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 11a. ed. ASM Press. (In Press)

Hammerschlag MR, Kohlhoff SA, Gaydos CA: Chapter 184, *Chlamydia pneumoniae*. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Schlossberg D: Chapter 183, Psittacosis (due to *Chlamydia psittaci*). En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors), *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practices of Infectiou Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

CAPÍTULO

28

Farmacoterapia antimicrobiana

Desde el siglo XVII, se utilizan fármacos para el tratamiento de las infecciones (p. ej., quinina para el paludismo, emetina para la amebosis); sin embargo, la farmacoterapia como ciencia empezó durante el primer decenio del siglo XX una vez que se conocieron los principios de la toxicidad selectiva, las relaciones químicas específicas entre los microorganismos patógenos y los fármacos, el surgimiento de resistencia farmacológica y la participación del tratamiento combinado. Los experimentos culminaron en la creación de las arsfenaminas para la sífilis, que fue el primer régimen quimioterapéutico planeado.

La era actual de la farmacoterapia antimicrobiana empezó en 1935 con el descubrimiento de las sulfonamidas. En 1940, se demostró que la penicilina, descubierta en 1929, es una sustancia terapéutica eficaz. Durante los siguientes 25 años, la investigación sobre los compuestos quimioterapéuticos se centró en gran parte en las sustancias de origen microbiano llamados antibióticos. Después de aislar, concentrar, purificar y producir en masa la penicilina, se crearon la estreptomicina, las tetraciclinas, el cloranfenicol y muchos otros fármacos. Estas sustancias se aislaron en un principio a partir de medios filtrados en los que se habían cultivado los mohos respectivos. Una de las características más sobresalientes de los antibióticos modernos es la modificación sintética de los fármacos conocidos.

En este capítulo, se describen los antibióticos más utilizados en el tratamiento de pacientes con infecciones bacterianas. La farmacoterapia de virus, hongos y parásitos se describe en los capítulos 30, 45 y 46, de manera respectiva. El capítulo 47 contiene más información sobre las pruebas de susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

Éstos actúan de diversas formas: por toxicidad selectiva, por inhibición de la síntesis y la función de la membrana celular, por impedimento de la síntesis de proteínas o al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos.

TOXICIDAD SELECTIVA

El antibiótico ideal muestra toxicidad selectiva, lo cual significa que el fármaco es nocivo para el microorganismo patógeno sin dañar al hospedador. La toxicidad selectiva a menudo es relativa y no absoluta. Esto implica que un fármaco, a la concentración que tolera el hospedador, es nocivo para el microorganismo infeccioso.

La toxicidad selectiva es una función de un receptor específico necesario para la fijación del fármaco o depende de la inhibición de algún acontecimiento bioquímico indispensable para el microorganismo patógeno, pero no para el hospedador. Los mecanismos de acción de los antibióticos se pueden describir bajo cuatro encabezados:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular
2. Inhibición de la función de la membrana celular
3. Inhibición de la síntesis de proteínas (es decir, inhibición de la traducción y la transcripción de material genético
4. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR

Las bacterias poseen una capa externa rígida, llamada pared celular. Ésta conserva la forma y el tamaño del microorganismo, cuya presión osmótica interna es elevada. Cuando la pared celular se lesiona (p. ej., por una lisozima) o su formación se inhibe, la célula se lisa. En un ambiente hipertónico (p. ej., sacarosa al 20%), la formación dañada de la pared celular provoca la formación de "protoplastos" bacterianos esféricos en los microorganismos grampositivos o "esferoplastos" en los microorganismos gramnegativos; estas variedades están limitadas por una membrana citoplásmica frágil. Si estos **protoplastos** o **esferoplastos** se colocan en un ámbito con tonicidad ordinaria, captan líquidos rápidamente, se edematizan y explotan. Las muestras obtenidas de pacientes que reciben tratamiento con antibióticos que actúan sobre la pared celular a menudo muestran bacterias edematosas o con formas raras.

La pared celular contiene un polímero complejo y distinto desde el punto de vista químico, que es un "mucopéptido" ("peptidoglucano") que consta de polisacáridos y un polipéptido con numerosos enlaces cruzados. Los polisacáridos por lo general contienen los aminoglúcidos *N*-acetilglucosamina y ácido acetilmurámico. Este último se encuentra exclusivamente en las bacterias. Los aminoácidos se unen a cadenas peptídicas cortas. La rigidez final de la pared celular depende de los enlaces cruzados de las cadenas peptídicas (es decir, a través de puentes de pentaglicina) como resultado de las reacciones de transpeptidación que llevan a cabo diversas enzimas. La capa de peptidoglucano es mucho más gruesa en la pared celular de los microorganismos grampositivos que en la de los gramnegativos.

apter 28_Carroll_4R.indd 363 14/04/16

Los β lactámicos son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana y, por lo tanto, son activos contra las bacterias en proliferación. Esta inhibición es sólo una de las diversas actividades de estos fármacos, pero es la que mejor se conoce. El paso inicial en la acción farmacológica consiste en enlazar el fármaco a los receptores celulares (**proteínas de unión a la penicilina [PBP, *penicilin binding proteins*]**). Se conocen como mínimo seis PBP diferentes (peso molecular [MW, *molecular weight*], de 40 a 120 kilodalton [kD]), y de ellos algunos son enzimas de transpeptidación. Los diversos receptores tienen distintas afinidades por los fármacos y cada una gobierna un efecto distinto. Por ejemplo, la unión de la penicilina a una PBP provoca principalmente un alargamiento anómalo de la célula, mientras que la unión a otra PBP genera un defecto en la periferia de la pared celular que origina lisis celular. Las PBP se encuentran bajo regulación cromosómica y las mutaciones alteran su número o su afinidad por los β lactámicos.

Luego que un β lactámico se ha adherido a uno o más receptores, se inhibe la reacción de transpeptidación y se impide la síntesis de peptidoglucano. El siguiente paso quizá comprende la eliminación o la inactivación de un inhibidor de las enzimas autolíticas en la pared celular. De esta manera, se activa la enzima lítica, con lo cual empieza la lisis siempre y cuando el ambiente sea isotónico. En un ámbito muy hipertónico, los microorganismos se transforman en protoplastos o esferoplastos, los cuales se encuentran cubiertos sólo por la membrana celular frágil. En estas células, la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos persiste durante cierto tiempo.

Las penicilinas y cefalosporinas inhiben a las enzimas de la transpeptidación quizá por su similitud estructural a la acil-D-alanil-D-alanina. La transpeptidación comprende la pérdida de una D-alanina del pentapéptido.

La notable falta de efectos adversos de los β lactámicos contra las células de mamíferos puede atribuirse a la ausencia, en las células animales, de una pared celular de tipo bacteriana, con su peptidoglucano. La diferente sensibilidad de las bacterias grampositivas y gramnegativas a las diversas penicilinas o cefalosporinas quizá depende de varias diferencias estructurales en sus paredes celulares (p. ej., cantidad de peptidoglucano, presencia de receptores y lípidos, naturaleza de los enlaces cruzados, actividad de enzimas autolíticas) que determinan la penetración, la unión y la actividad de los fármacos.

La resistencia a las penicilinas depende de la producción de enzimas que destruyen a la penicilina (β lactamasas). Las **β lactamasas** abren el anillo β lactámico de las penicilinas y cefalosporinas, lo cual anula su actividad antimicrobiana. Se han descrito β lactamasas para numerosas especies de bacterias tanto grampositivas como gramnegativas. Algunas lactamasas β son controladas por plásmidos (p. ej., penicilinasa de *Staphylococcus aureus*), mientras que otras lo son por los cromosomas (p. ej., muchas bacterias gramnegativas). Todas ellas se producen de manera constitutiva y tienen una gran tendencia a desplazarse de una especie de bacteria a otra (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y enterococos productores de lactamasa β). Las lactamasas β mediadas por los cromosomas pueden ser generadas de forma constitutiva (p. ej., *Bacteroides, Acinetobacter*) o pueden ser inducidas (p. ej., *Enterobacter, Citrobacter, Pseudomonas*).

Hay un grupo de lactamasas β que se encuentra en ocasiones en ciertas especies de bacilos gramnegativos, por lo general *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Estas enzimas se denominan **β lactamasas de amplio espectro (ESBL, *extended-spectrum* β-lactamases)** puesto que confieren a la bacteria la posibilidad adicional de hidrolizar los anillos lactámicos de cefotaxima, ceftazidima o aztreonam.

La clasificación de las lactamasas β es compleja y se basa en su genética, propiedades bioquímicas y afinidad del sustrato por un inhibidor de la β lactamasa (ácido clavulánico) (véase cuadro 28-1 para los dos sistemas de clasificación principales). El ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam son inhibidores de la β lactamasa que tienen gran afinidad por algunas β lactamasas con las que se unen de modo irreversible (p. ej., penicilinasa de *S. aureus*), pero no son hidrolizados por la β lactamasa. Estos inhibidores protegen de manera simultánea a las penicilinas hidrolizables (p. ej., ampicilina, amoxicilina y ticarcilina) de la destrucción. Ciertas penicilinas (p. ej., cloxacilina) también muestran gran afinidad por las β lactamasas .

Poco después de su primera descripción, hace casi 30 años, las ESBL más comunes eran del tipo regulado por los plásmidos clases TEMoniera (TEM) A y variable sulfidrilo (SHV, *sulphydryl variable*) (cuadro 28-1). Hoy día, son mucho más frecuentes en la mayor parte del mundo las **enzimas CTX-M**. Tales enzimas muestran mayor actividad contra la cefotaxima y la ceftriaxona, que contra la ceftazidima y al parecer son inhibidas con mayor facilidad por el tazobactam que por los demás inhibidores de la β lactamasa. Un aspecto de los más preocupantes es el surgimiento de **carbapenemasas de *Klebsiella pneumoniae*** (**KPC**, *Klebsiella pneumoniae carbapenemases*), que son enzimas de tipo ESBL que confieren resistencia a las cefalosporinas de tercera y cuarta generaciones y a los carbapenémicos. Este mecanismo de resistencia es mediado por plásmidos y se ha diseminado por muchos hospitales en Estados Unidos y otros países.

Aunque los genes que codifican para metalo β lactamasas fueron descubiertos a mediados del decenio de 1960, la diseminación global de ellos ha facilitado la diseminación de estas enzimas resistentes al inhibidor de amplio espectro entre muchos patógenos gramnegativos. Esto ha marcado el inicio de una era de amplia propagación de *Enterobacteriacea* resistente al carbapenem que poseía las enzimas metalo β lactamasa codificada por integrón Verona (VIM, *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase*) y metalo β lactamasa Nueva Delhi (NDM, *New Delhi metallo*-β-*lactamase*). Las enzimas tipo VIM se presentaron originalmente en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii,* pero en los últimos 10 años han abarcado también a *Enterobacteriaceae*. Se conocen más de 20 tipos de dichas enzimas y prevalecen más en Europa, el Oriente Medio y Asia. La NDM-1 es relativamente nueva y se le describió por primera vez en la cepa *K. pneumoniae* en Suecia de un paciente que había viajado a India. Además de su propagación en otras *Enterobacteriaceae,* se produjeron notificaciones de *A. baumannii* productora de NDM-1. Los microorganismos en cuestión suelen incluir genes que codifican la resistencia a otras clases de antibióticos, como las fluoroquinolonas y los aminoglucósicos, razón por la cual las opciones terapéuticas son muy limitadas para sustancias como la colistina. Por esa razón, habrá que someter a dichos pacientes a todas las precauciones

CUADRO 28-1 Clasificación de las β lactamasas

Sistema por grupos de Bush-Jacoby Medeiros	Tipo de enzima	Inhibición por medio de clavulanato	Sistema Ambler	Principales atributos
1	Cefalosporinasa	No	C	Cromosómica; enzimas tipo AMP-C resistente a todos los β lactámicos excepto carbapenémicos
2a	Penicilinasa	Sí	A (serina)	Penicilinasa estafilocócica; *Bacillus cereus*
2b	Amplio espectro	Sí	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	Espectro extendido	Sí	A (serina)	TEM y variantes de SHV; CTX-M derivado; GES-1,2; VEB-1,2
2br	Resistente al inhibidor	Reducida	A	TEM-30 resistente al inhibidor
2c	Carbenicilinasa	Sí	A	Hidroliza carbenicilina
2d	Cloxacilinasa	Sí	D* o A	Hidroliza oxacilina (OXA)
2e	Cefalosporinasa	Sí	A	Cafalosporinasas
2f	Carbapenemasa	Sí	A	Carpapenemasas inhibidas por clavulanato (p. ej., IMP, KPC, SME-1)
3	Metaloenzimas	No	B (ZN^{2+})	Carabapenemasas dependientes del zinc (p. ej. IMP, VIM, NDM-1, GIM, SPM, SIM)
4	Penicilinasa	No	No clasificado	Enzimas varias, aún sin secuenciar

Abreviaturas: AMP, ampicilina; CTX, cefotaxima; GES, Guyana; GIM, imipenemasa alemana; IMI, imipenem; IMP, imipenem; KPC, carbapenamasa de *Klebsiella pneumoniae*; OXA, oxacilina; SIM, imipenemasa Seoul; SHV, variable sulfhidrílica; SME, β lactamasa de espectro extendido de *Serratia marcescens*; SPM, metalo-β lactamasa Sao Paulo; TEM, TEMoniera; VEB, metalo-β lactamasa codificada por integrón Verona; VIM, codificado por el integrón Verona.

*Incluye la familia OXA de amplio espectro en *Pseudomonas aeruginosa*, las carbapenemasas derivadas de OXA detectadas en *Acinetobacter,* y las enzimas de espectro extendido derivadas de OXA producidas por *P. aeruginosa*.

Con autorización de Opal SM, Pop-Vicas A: Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ [editors]. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 8a. ed. Elsevier, p. 240, 2015. Copyright Elsevier.

máximas de control de la infección para evitar la propagación a otros individuos en entornos hospitalarios.

Hay otros dos tipos de mecanismos de resistencia. Uno se debe a la ausencia de ciertos PBP y ocurre como resultado de una mutación cromosómica; el otro es consecutivo al fracaso del β lactámico para activar las enzimas autolíticas en la pared celular. Como resultado, hay inhibición del microorganismo, pero no se le aniquila. Este tipo de **tolerancia** se ha observado en especial con los estafilococos y ciertos estreptococos.

Ejemplos de fármacos que actúan al inhibir la síntesis de la pared del microorganismo son las penicilinas, las cefalosporinas, la vancomicina y otros análogos glucopéptidos como la teicoplanina y los lipoglucopéptidos nuevos, así como cicloserina. Muchos otros fármacos, como bacitracina, teicoplanina, vancomicina, ristocetina y novobiocina, impiden los primeros pasos en la biosíntesis del peptidoglucano. Dado que las primeras fases en la síntesis se llevan a cabo dentro de la membrana citoplásmica, estos fármacos deben cruzar la membrana para ser eficaces.

INHIBICIÓN/ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN DE LA MEMBRANA CELULAR

El citoplasma de las células vivas está limitado por la membrana citoplásmica, la cual sirve como barrera selectiva de permeabilidad, lleva a cabo funciones de transporte activo y, por lo tanto, regula la composición interna de la célula. Cuando se altera la integridad funcional de dicha membrana, las macromoléculas y los iones salen de la célula y ésta se daña o muere. La membrana citoplásmica de las bacterias y hongos tiene una estructura distinta a la de las células animales y es dañada con más facilidad por ciertos fármacos. Por consiguiente, es posible la farmacoterapia selectiva.

Los detergentes, que contienen grupos lipófilos e hidrófilos, rompen las membranas citoplásmicas y aniquilan a la célula (capítulo 4). Una clase de antibióticos, las polimixinas, constan de péptidos cíclicos similares a detergentes que dañan de manera selectiva a las membranas que contienen fosfatidiletanolamina, uno de los componentes principales de las membranas bacterianas. Algunos antibióticos interfieren de manera específica en la biosíntesis de las membranas citoplásmicas (p. ej., el ácido nalidíxico y la novobiocina inhiben la síntesis de DNA y la novobiocina inhibe también la síntesis de ácido teicoico).

Una tercera clase de fármacos activos en la membrana corresponde a los ionóforos, compuestos que permiten la difusión rápida de cationes específicos a través de la membrana. Por ejemplo, la valinomicina gobierna de manera específica el paso de iones potasio. Ciertos ionóforos actúan formando poros hidrófilos en la membrana; otros participan como transportadores de iones liposolubles cuyo comportamiento es de ida y vuelta dentro de la membrana. Los ionóforos aniquilan células al descargar el potencial de membrana, que es indispensable para la fosforilación oxidativa y para otros procesos regulados por la membrana; no son selectivos para las bacterias, pero actúan sobre las membranas de todas las células.

La daptomicina es un antibiótico lipopéptido cíclico de 13 miembros que muestra acción bactericida rápida al unirse a la membrana por un mecanismo que depende del ión de calcio y despolariza el potencial de la membrana bacteriana; con ello origina su muerte. En la actualidad se ha aprobado el uso de dicho fármaco para el tratamiento de infecciones

hematógenas y cutáneas por *S. aureus*, así como infecciones de tejidos blandos causadas por bacterias grampositivas, en particular aquellas que son fuertemente resistentes a β lactámicos y vancomicina.

La telavancina, otro de los lipoglucopéptidos nuevos, también puede despolarizar las membranas de estafilococos por un mecanismo aún no dilucidado.

Otros ejemplos de fármacos que actúan al inhibir la función de la membrana celular son anfotericina B, colistina e imidazoles y triazoles.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

Se sabe que macrólidos, lincosamidas, tetraciclinas, glicilciclinas, aminoglucósidos y cloranfenicol impiden la síntesis de proteínas en las bacterias. Sin embargo, el mecanismo preciso de acción todavía se desconoce.

Las bacterias poseen ribosomas 70S, mientras que las células de los mamíferos tienen ribosomas 80S. Las subunidades de cada tipo de ribosoma, su composición química y sus especificidades funcionales son lo suficientemente distintas como para explicar la razón por la que los antibióticos inhiben la síntesis de proteínas en los ribosomas bacterianos sin tener efectos importantes en los ribosomas de mamíferos.

En la síntesis normal de proteínas microbianas, el mensaje del mRNA se "lee" de forma simultánea en diversos ribosomas que se encuentran dispersos en la tira de mRNA. Éstos se denominan **polisomas**.

Aminoglucósidos

El modo de acción de la estreptomicina se ha estudiado mucho más que el de otros aminoglucósidos, pero quizá todos actúan de manera similar. El primer paso es la unión del aminoglucósido a una proteína receptora específica (P 12 en el caso de la estreptomicina) en la subunidad 30S del ribosoma microbiano. En segundo lugar, el aminoglucósido bloquea la actividad normal del "complejo de iniciación" para la formación del péptido (mRNA + formilmetionina + tRNA). En tercer lugar, el mensaje del mRNA se lee mal en la "región de reconocimiento" del ribosoma. De esa forma, se inserta el aminoácido incorrecto en el péptido, lo cual origina la formación de una proteína no funcional. En cuarto lugar, la unión del aminoglucósido produce la desintegración de los polisomas y su separación con formación de **monosomas**, que no pueden llevar a cabo la síntesis de proteínas. Estas acciones son más o menos simultáneas y el efecto global suele ser un acontecimiento irreversible: la aniquilación de la bacteria.

La resistencia cromosómica de los microorganismos a los aminoglucósidos depende de modo fundamental de no poseer un receptor proteínico específico (la modificación del sitio efector causado por mutaciones) en la subunidad 30S del ribosoma. La resistencia a los aminoglucósidos que depende de los plásmidos está sujeta a la producción en el microorganismo de enzimas adenililadoras, fosforiladoras o acetiladoras que destruyen a los fármacos (los mecanismos más comunes). Un tercer tipo de resistencia es la que consta de un "defecto de la permeabilidad", un cambio en la membrana externa que reduce el transporte activo del aminoglucósido hacia el interior de la célula de manera que el fármaco no puede alcanzar el ribosoma. Con frecuencia este proceso es modulado por plásmidos.

Macrólidos, azálidos y cetólidos

Estos fármacos (eritromicinas, azitromicina, claritromicina y roxitromicina además del cetólido telitromicina) se unen a la subunidad 50S del ribosoma y el sitio de enlace es un rRNA 23S en el dominio V. Tales medicamentos interfieren con la formación de complejos de iniciación para la síntesis de las cadenas peptídicas o interfieren con las reacciones de translocación del aminoacilo. Algunas bacterias resistentes a macrólidos no poseen el receptor adecuado en el ribosoma (por medio de metilación del sitio efector 23S rRNA). Los genes *erm* (metilación ribosómica de eritromicina) que codifican dichos mecanismos pudieran ser controlados por plásmidos o cromosomas. Se expresan en forma constitutiva o pueden ser inducidos por concentraciones subinhibidoras de macrólidos. Otros mecanismos menos frecuentes de resistencia incluyen la producción de enzimas inactivadoras o codificadas por *mef* y *msr*. La resistencia mediada por este último mecanismo no afecta la susceptibilidad a los cetólidos.

Lincosamidas

La clindamicina y la lincomicina se unen a la subunidad 50S del ribosoma microbiano y son similares a los macrólidos en cuanto al sitio de unión, su actividad antibacteriana y el modo de acción. Los mutantes cromosómicos son resistentes puesto que carecen del sitio correspondiente de unión en la subunidad 50S.

Tetraciclinas

Las tetraciclinas se unen a la subunidad 30S de los ribosomas microbianos; inhiben la síntesis de proteínas al impedir la unión del aminoacil-tRNA cargado. De esta manera, aquellas impiden la introducción de nuevos aminoácidos en la cadena nueva de péptidos. Esta acción suele ser inhibidora y reversible al retirar el fármaco. La resistencia a las tetraciclinas ocurre por múltiples mecanismos: salida, protección ribosómica y modificación química, entre otros.

Los más importantes de éstos son los primeros dos y su mecanismo es el siguiente: la membrana citoplásmica de la célula bacteriana contiene bombas de salida que expulsan el fármaco de la célula. Los productos del gen *tet* son los encargados de proteger al ribosoma, probablemente a través de mecanismos que inducen cambios en la conformación. Estos cambios impiden la unión de las tetraciclinas o provocan su separación del ribosoma. Con frecuencia este mecanismo es regulado por plásmidos. Las células de mamíferos no concentran de manera activa las tetraciclinas.

Glicilciclinas

Éstas son análogos sintéticos de las tetraciclinas. El fármaco disponible en Estados Unidos y Europa es la tigeciclina,

derivado de la minociclina. Las glicilciclinas inhiben la síntesis proteínica en una forma similar a como lo hacen las tetraciclinas, pero muestran una unión más ávida al ribosoma. La tigeciclina muestra actividad contra un gran conjunto de bacterias grampositivas y gramnegativas que incluyen cepas resistentes a las tetraciclinas típicas. El fármaco en cuestión ha sido aprobado para tratar infecciones cutáneas y de estructuras de la piel, infecciones intraabdominales y también neumonitis extrahospitalaria, en particular las ocasionadas por patógenos bacterianos resistentes a otros antimicrobianos diversos. Además, ha aumentado de manera sustancial el empleo de dicho fármaco para tratar infecciones de origen nosocomial resistentes a múltiples fármacos (excepto *P. aeruginosa*). En el año de 2013 en Estados Unidos la FDA expidió un señalamiento de cautela con base en el análisis de 13 estudios clínicos en que se demostró un mayor riesgo de muerte por tigeciclina (http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm369580.htm). Se sugiere reservar el uso de este fármaco para situaciones en que no se disponga de otros medicamentos, o que no se puedan usar debido a resistencia a ellos.

Cloranfenicol

El cloranfenicol se une a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano 70S; interfiere con la unión de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica naciente, en gran medida porque inhibe la acción de peptidiltransferasa. Es un antibiótico principalmente bacteriostático y la proliferación de los microorganismos se reanuda cuando se interrumpe su uso. Los gérmenes resistentes a él por lo regular producen acetiltransferasas de cloranfenicol que destruyen la actividad del fármaco. La producción de dicha enzima por lo regular está bajo el control de genes de resistencia mediada por plásmidos llamados *cat*. Otros mecanismos de resistencia incluyen bombas de expulsión y disminución de la permeabilidad de membrana.

Estreptograminas

La combinación de dos derivados de pristinamicina comprenden la quinupristina-dalfopristina, dos fármacos que actúan de forma sinérgica para lograr actividad bactericida contra bacterias grampositivas, ventaja que no se tendría con cualquiera de los dos fármacos por separado. Su mecanismo de acción al parecer es la unión irreversible a sitios diferentes de las subunidades 50S de los ribosomas bacterianos 70S. La resistencia puede surgir por cambios de conformación en el punto de actividad, el mecanismo de expulsión o la inactivación enzimática.

Oxazolidinonas

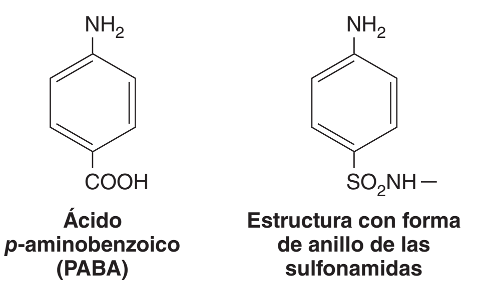
Éstas poseen un mecanismo peculiar de inhibición de la síntesis proteínica predominantemente en bacterias grampositivas. Tales compuestos interfieren en la traducción al inhibir la formación de *N*-formilmetionil-tRNA, complejo de comienzo en el ribosoma 23S. La linezolida fue el primer fármaco distribuido a nivel comercial y ha tenido un uso amplio para tratar diversas infecciones graves por grampositivos que incluyen las ocasionadas por enterococos resistentes a vancomicina e incluso infecciones por micobacterias.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Algunos ejemplos de fármacos que actúan al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos son quinolonas, pirimetamina, rifampicina, sulfonamidas, trimetoprim y trimetrexato. La rifampicina impide la proliferación bacteriana al unirse fuertemente con la RNA polimerasa dependiente del DNA de las bacterias. De esta manera, inhibe la síntesis bacteriana de RNA. La resistencia a la rifampicina es resultado de un cambio en la RNA polimerasa a causa de una mutación cromosómica que ocurre con una frecuencia elevada. El mecanismo de acción de la rifampicina sobre los virus es distinto. Bloquea una fase tardía en el ensamble de los poxvirus.

Todas las quinolonas y las fluoroquinolonas inhiben la síntesis microbiana de DNA al bloquear las DNA girasas, topoisomerasas que intervienen de forma decisiva en la réplica y la reparación de DNA.

Para muchos microorganismos, el ácido *p*-aminobenzoico (PABA, *p-aminobenzoic acid*) es un metabolito indispensable. El modo específico de acción del PABA comprende una condensación sujeta al trifosfato de adenosina (ATP) de una pteridina con un PABA para obtener ácido dihidropteroico, que posteriormente se convierte en ácido fólico. El PABA participa en la síntesis de ácido fólico, precursor importante para la síntesis de ácidos nucleicos. Las sulfonamidas son análogos estructurales de PABA e inhiben a la dihidropteroato sintetasa.



Las sulfonamidas pueden entrar en la reacción en lugar del PABA y competir por el centro activo de la enzima. Como resultado se forman análogos no funcionales de ácido fólico, lo que impide aún más la proliferación de la célula bacteriana. La acción inhibidora de las sulfonamidas sobre la proliferación bacteriana es contrarrestada por un exceso de PABA en el ambiente (inhibición competitiva). Las células animales no pueden sintetizar ácido fólico y dependen de las fuentes exógenas. Algunas bacterias, al igual que las células animales, no son inhibidas por las sulfonamidas. Sin embargo, muchas otras bacterias sintetizan ácido fólico como ya se mencionó y, por lo tanto, son sensibles a la acción de las sulfonamidas.

El trimetoprim (3,4,5-trimetoxibencilpirimidina) inhibe a la ácido dihidrofólico reductasa con una eficacia 50 000 veces mayor en las bacterias que en las células de mamífero. Esta enzima reduce el ácido dihidrofólico para formar ácido tetrahidrofólico, una fase en la secuencia que provoca la síntesis de purinas y finalmente de DNA. Tanto las sulfonamidas como el trimetoprim se pueden utilizar de forma aislada para impedir la proliferación bacteriana. Si se usan juntas, producen un bloqueo secuencial con lo que su acción se acentúa (sinergia). Las mezclas de sulfonamidas (cinco partes) con trimetoprim (una

parte) se han utilizado en el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis,* paludismo, enteritis por *Shigella*, salmonelosis generalizada, infecciones urinarias y muchas otras.

La pirimetamina también inhibe la dihidrofolato reductasa, pero es más activa contra la enzima en las células de mamífero y, por consiguiente, es más tóxica que el trimetoprim. Hoy día, el tratamiento de elección de la toxoplasmosis y otras infecciones por protozoarios es la combinación de pirimetamina con sulfonamida o clindamicina.

RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

Hay numerosos mecanismos a través de los cuales los microorganismos adquieren resistencia contra los fármacos.

1. Los microorganismos producen enzimas que destruyen al fármaco activo. ***Ejemplos***: el estafilococo resistente a la penicilina G produce β lactamasa que destruye al medicamento. Los bacilos gramnegativos producen otras β lactamasas (cuadro 28-1). Las bacterias gramnegativas que son resistentes a los aminoglucósidos (gracias a un plásmido) producen enzimas adeniladoras, fosforiladoras o acetiladoras que destruyen al fármaco.
2. Los microorganismos cambian su permeabilidad al fármaco. ***Ejemplos***: las tetraciclinas se acumulan en las bacterias sensibles, pero no en las resistentes. Asimismo, la resistencia a las polimixinas está vinculada con un cambio en la permeabilidad a los fármacos. Los estreptococos poseen una barrera natural de permeabilidad contra los aminoglucósidos. Esta característica se puede vencer de modo parcial por medio de la presencia simultánea de un fármaco activo en la pared celular, por ejemplo una penicilina. La resistencia a la amicacina y otros aminoglucósidos depende en ocasiones de la falta de permeabilidad a los medicamentos, en apariencia por un cambio de la membrana externa que daña el transporte activo hacia el interior de la célula.
3. Los microorganismos forman un sitio de acción estructural modificado para el fármaco (véase también número 5, más adelante). ***Ejemplos***: los microorganismos resistentes a la eritromicina tienen un receptor modificado en la subunidad 50S del ribosoma, que es resultado de la metilación de un RNA ribosómico 23S. La resistencia a ciertas penicilinas y cefalosporinas puede ser función de la pérdida o la alteración de las PBP. La resistencia a la penicilina de *Streptococcus penumoniae* y enterococos es consecutiva a PBP alteradas.
4. Los microorganismos forman una vía metabólica modificada que desvía la reacción que es inhibida por el fármaco. ***Ejemplo***: algunas bacterias resistentes a las sulfonamidas no necesitan PABA extracelular pero, al igual que los mamíferos, pueden utilizar ácido fólico preformado.
5. Los microorganismos producen una enzima modificada que aún puede llevar a cabo su función metabólica, pero resulta mucho menos alterada por el fármaco. ***Ejemplo***: en las bacterias resistentes al trimetoprim, la ácido dihidrofólico reductasa se inhibe con mucho menos eficacia que en las bacterias sensibles al trimetoprim.
6. Los microorganismos pueden generar bombas de expulsión que transportan los antibióticos fuera de las células. Muchos microorganismos grampositivos, en particular gramnegativos, han terminado por crear este mecanismo contra tetraciclinas (situación común), macrólidos, fluoroquinolonas e incluso β-lactámicos.

FARMACORRESISTENCIA

Origen no genético de la farmacorresistencia

Para la mayor parte de las acciones antibacterianas es necesaria la replicación de las bacterias. Por lo tanto, los microorganismos que carecen de actividad metabólica (no se multiplican) son fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su progenie es sensible. ***Ejemplo***: las micobacterias a menudo sobreviven en los tejidos durante varios años después de la infección, pero están reprimidas por las defensas del hospedador y no se multiplican. Estos microorganismos “persistentes” son resistentes al tratamiento y no se pueden erradicar con medicamentos. Sin embargo, cuando empiezan a multiplicarse (p. ej., después de suprimir la inmunidad celular en un paciente), se reanuda su sensibilidad a los mismos fármacos.

Algunos microorganismos quizá pierdan su sitio de acción específico para un fármaco durante varias generaciones y, por consiguiente, son resistentes. ***Ejemplo***: algunas veces los microorganismos sensibles a la penicilina cambian a formas L con deficiencia de la pared celular durante la administración de penicilina. Al carecer de paredes celulares, son resistentes a los fármacos que inhiben la pared celular (penicilinas, cefalosporinas) y así permanecen durante varias generaciones. Cuando estos microorganismos restablecen sus formas originales al reanudar la producción de una pared celular, de nuevo son sensibles a la penicilina.

Otros microorganismos infectan al hospedador en los sitios donde los antibióticos no penetran o no son activos. ***Ejemplos***: los aminoglucósidos, como la gentamicina, no son eficaces en el tratamiento de la fiebre por salmonelosis intestinal puesto que la salmonela es intracelular y los aminoglucósidos no penetran en las células. Asimismo, únicamente los fármacos que entran en las células son efectivos en el tratamiento de la legionelosis por la ubicación intracelular de *Legionella pneumophila*.

Origen genético de la farmacorresistencia

La mayor parte de los microorganismos resistentes a fármacos emerge como resultado de algún cambio genético y diversos procesos de selección ulteriores debido a los antibióticos.

Resistencia cromosómica

Surge como resultado de una mutación espontánea en un locus que regula la sensibilidad a determinado antimicrobiano. La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección para suprimir a los microorganismos sensibles y fomentar la proliferación de los mutantes resistentes. Las mutaciones espontáneas ocurren con una frecuencia de 10^{-12} a 10^{-7} y, por lo tanto, constituyen una causa rara de resistencia clínica a los

fármacos. Sin embargo, los mutantes cromosómicos resistentes a la rifampicina son mucho más frecuentes (alrededor de 10^{-7} a 10^{5}). Por consiguiente, el tratamiento de las infecciones bacterianas exclusivamente con rifampicina a menudo fracasa. Los mutantes cromosómicos por lo general son resistentes gracias a un cambio en un receptor estructural para un fármaco. Por lo tanto, la proteína P 12 en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano sirve como receptor para la unión de la estreptomicina. La mutación en el gen que regula a esa proteína estructural origina resistencia a la estreptomicina. La mutación también puede provocar la pérdida de PBP, lo cual hace que estos mutantes sean resistentes a los lactámicos β.

Resistencia extracromosómica

Con frecuencia las bacterias contienen elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos. Sus características se describen en el capítulo 7.

Algunos plásmidos transportan genes de resistencia a uno y con frecuencia a varios antibióticos. Los genes de los plásmidos para resistencia antimicrobiana suelen regular la formación de enzimas que pueden destruir a los antibióticos. Así, los plásmidos establecen la resistencia a las penicilinas y las cefalosporinas al transportar genes para la formación de β lactamasas. Los plásmidos codifican las enzimas que acetilan, adenilan o fosforilan diversos aminoglucósidos; para enzimas que determinan el transporte activo de las tetraciclinas a través de la membrana celular y para otras.

El material genético y los plásmidos se pueden transferir a través de transducción, transformación y conjugación. Estos procesos se describen en el capítulo 7.

RESISTENCIA CRUZADA

Algunos microorganismos que son resistentes a cierto fármaco también son resistentes a otros medicamentos que comparten un mecanismo de acción. Este tipo de relación existe principalmente entre fármacos con similitud química (p. ej., diferentes aminoglucósidos) o que tienen un modo similar de enlace o acción (p. ej., macrólidos y lincosamida). En determinadas clases de fármacos, el núcleo activo de la sustancia química es tan similar entre distintos congéneres (p. ej., tetraciclinas), que la resistencia cruzada es extensa.

LIMITACIÓN DE LA FARMACORRESISTENCIA

Es posible reducir al mínimo el surgimiento de farmacorresistencia en las infecciones de las maneras siguientes: 1) al mantener una concentración suficientemente elevada del fármaco en los tejidos para inhibir tanto la población original como los mutantes de primer paso; 2) al administrar al mismo tiempo dos fármacos que carezcan de resistencia cruzada, cada uno de los cuales retrasa el surgimiento de mutantes resistentes a otros fármacos (p. ej., rifampicina e isoniazida [INH, *isonicotinylhydrazine*] en el tratamiento de la tuberculosis) y 3) al evitar el contacto del microorganismo con un fármaco especialmente valioso mediante la limitación de su uso, especialmente en hospitales.

CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LA FARMACORRESISTENCIA

Con unos cuantos ejemplos se ilustran las consecuencias del surgimiento de microorganismos resistentes a los fármacos y su selección por el uso tan extendido de antibióticos.

Gonococos

Cuando se utilizaron por primera vez las sulfonamidas a finales del decenio de 1930 para el tratamiento de la gonorrea, casi todas las cepas aisladas de gonococo eran sensibles y la mayor parte de las infecciones se curaba. Unos cuantos años después, casi todas las cepas se habían tornado resistentes a las sulfonamidas y rara vez se curaba la gonorrea con estos fármacos. La mayor parte de los gonococos era aún sensible a la penicilina. En los siguientes decenios, aumentó de manera gradual la resistencia a la penicilina, pero una dosis elevada aún era curativa. En la década de 1970, se produjeron gonococos productores de β lactamasa, primero en Filipinas y luego en África Occidental, y se diseminaron hasta formar focos endémicos en todo el mundo. Estas infecciones no se podían tratar de manera eficaz con penicilina y se utilizó espectinomicina, aunque ya apareció resistencia a esta última. Se recomendaba administrar cefalosporinas de tercera generación o quinolonas para el tratamiento de la gonorrea. Sin embargo, el surgimiento de resistencia a quinolonas en algunos sitios geográficos limitó su uso, razón por la cual ya no se le recomienda como fármaco de primera elección. De mayor interés han sido las observaciones recientes respecto a la eficacia terapéutica con las cefalosporinas orales de tercera generación; ello se debe al incremento de concentraciones inhibitorias mínimas (MIC, *minimal inhibitory concentration*) en el caso de *N. gonorrhoeae*. Las cefalosporinas de tercera generación por vía parenteral siguen siendo los fármacos de elección contra dicho microorganismo. Sin embargo, en casos de recidiva manifiesta, se recomienda practicar cultivos para identificar *N. gonorrhoeae* seguidos de antibioticogramas para vigilar la tendencia de que surja resistencia nueva a cefalosporinas.

Meningococos

Hasta el año de 1962, el meningococo era sensible a las sulfonamidas y estos fármacos eran eficaces para la profilaxia y el tratamiento. Posteriormente surgieron meningococos resistentes a las sulfonamidas y hoy estos medicamentos han perdido su utilidad contra las infecciones meningocócicas. Las penicilinas siguen siendo efectivas para el tratamiento y se utiliza rifampicina para la profilaxia. No obstante, han surgido cepas de meningococo resistentes a la rifampicina (hasta 27% de las cepas aisladas) con la posibilidad de generar infecciones invasoras. Las fluoroquinolonas han sustituido en gran parte a la rifampicina para la profilaxia.

Estafilococos

En 1944, la mayor parte de los estafilococos era sensible a la penicilina G, si bien se había observado unas cuantas cepas resistentes. Después del empleo masivo de penicilina, entre 65 y 85% de los estafilococos aislados en hospitales en 1948 eran

productores de β lactamasa y, por consiguiente, resistentes a la penicilina G. El desarrollo de las penicilinas resistentes a β lactamasa (p. ej., nafcilina, meticilina y oxacilina) proporcionó un respiro temporal respecto del problema, pero son frecuentes las infecciones causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA, *methicillin-resistant S aureus*). Hoy día, los estafilococos resistentes a la penicilina comprenden no sólo aquellos que se adquieren en los hospitales, sino también 80 a 90% de los que se obtienen en la población. Asimismo, estos microorganismos tienden a ser resistentes a otros fármacos (p. ej., las tetraciclinas). De forma similar, es frecuente detectar MRSA en infecciones de origen extrahospitalario causadas por clonas circulantes como la USA 300 y en infecciones de origen nosocomial. Las infecciones de instituciones de atención de la salud quizá sean causadas por cepas extrahospitalarias más susceptibles o por las clonas típicas resistentes a múltiples fármacos y adquiridas en los nosocomios. La vancomicina ha sido el fármaco principal utilizado para tratar las infecciones por MRSA, pero la identificación de cepas con resistencia intermedia y las notificaciones de algunos casos de resistencia de alto grado a la vancomicina han acelerado la búsqueda de fármacos nuevos. Algunos de estos últimos que poseen actividad contra MRSA incluyen daptomicina, linezolida, quinupristina-dalfopristina y ceftarolina, una nueva cefalosporina.

Neumococos

Staphylococcus pneumoniae fue sensible a la penicilina G hasta 1963, cuando se encontraron cepas relativamente resistentes a la penicilina en Nueva Guinea. Posteriormente se encontraron neumococos resistentes a la penicilina en Sudáfrica, Japón, España y, más tarde, en todo el mundo. En Estados Unidos, cerca de 10% de los neumococos es resistente a la penicilina G (concentración inhibidora mínima [MIC, *minimal inhibitory concentration*] > 2 μg/ml) y aproximadamente 18% tiene una resistencia intermedia (MIC de 0.1 a 1 μg/ml). La resistencia a la penicilina se debe a las proteínas de unión de penicilina modificadas. La resistencia a la penicilina en el neumococo tiende a ser clonal. El neumococo con frecuencia también es resistente al trimetoprim-sulfametoxazol, la eritromicina y las tetraciclinas. Ha comenzado a manifestarse la resistencia a la quinolona por su uso cada vez más amplio, lo cual es producto de mutaciones de la topoisomerasa IV de DNA o GyrA o GyrB de la DNA girasa.

Enterococos

Los enterococos tienen resistencia intrínseca a múltiples antibióticos; éstos incluyen penicilina G y ampicilina con MIC elevadas; cefalosporinas con MIC muy altas; resistencia leve a los aminoglucósidos y al trimetoprim-sulfametoxazol *in vivo*. Asimismo, se ha demostrado que los enterococos poseen resistencia adquirida a casi todos los antibióticos por los mecanismos siguientes: PBP modificadas y resistencia a los β lactámicos; gran resistencia a los aminoglucósidos y resistencia a fluoroquinolonas, macrólidos, azálidos y tetraciclinas. Algunos enterococos han adquirido un plásmido que codifica la β lactamasa que los torna totalmente resistentes a la penicilina y la ampicilina. La más importante es la resistencia a la vancomicina, que ya es frecuente en Europa y Norteamérica aunque hay variaciones geográficas en cuanto al porcentaje de enterococos resistentes a la vancomicina. La especie que con más frecuencia presenta resistencia a la vancomicina es *Enterococcus faecium*. En los brotes de infecciones por enterococos resistentes a vancomicina (VRE, *vancomycin–resistant enterococci*), las cepas aisladas difieren desde el punto de vista clonal o genético. También se conoce resistencia de los enterococos a las estreptograminas (quinupristina-dalfopristina). Una preocupación importante es la resistencia cada vez mayor a fármacos activos para combatir a los VRE, como la linezolida.

Bacterias gramnegativas del tubo digestivo

La mayor parte de la farmacorresistencia de dichas bacterias se atribuye a la transmisión extensa de plásmidos de resistencia entre distintos géneros. En muchas partes del mundo, cerca de 50% de las especies de *Shigella* ahora es resistente a múltiples fármacos.

Las salmonelas transportadas por animales han generado resistencia, en especial a fármacos (sobre todo a las tetraciclinas) incorporados en los alimentos de los animales. La costumbre de agregar fármacos en los alimentos de los animales provoca que aquellos de granja crezcan con mayor rapidez, pero también aumenta la cantidad de microorganismos del tubo digestivo resistentes a fármacos en la microbiota fecal de los granjeros. El incremento concomitante de infecciones por salmonela resistente a fármacos en Reino Unido provocó que se limitaran los antibióticos en la comida de los animales. En Estados Unidos, la adición continua de tetraciclinas a los alimentos de los animales quizá contribuye a la propagación de plásmidos de resistencia y de salmonela resistente a fármacos. A finales del decenio de 1990, surgió y se propagó a escala mundial el fago tipo DT104 de *Salmonella* serotipo Typhimurium; esta cepa particular es resistente a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas y tetraciclina.

Los plásmidos que transportan genes de farmacorresistencia existen en muchas bacterias gramnegativas de la microbiota normal del tubo digestivo. El uso excesivo de antibióticos (en especial en los pacientes hospitalizados) propicia la supresión de los microorganismos sensibles al fármaco en la microbiota intestinal y favorece la persistencia y la proliferación de bacterias resistentes a fármacos, incluidas *Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas* y *Serratia*, así como de hongos. Estos microorganismos generan problemas especialmente difíciles en los pacientes granulocitopénicos e inmunodeprimidos. El ambiente cerrado de los hospitales facilita la transmisión de estos microorganismos resistentes a través del personal y los fómites, así como por contacto directo.

Mycobacterium tuberculosis

Cerca del 10% de las cepas aisladas de *M. tuberculosis* muestra resistencia primaria a fármacos, principalmente a la INH o estreptomicina. La resistencia a la rifampicina o etambutol es menos frecuente. La INH y la rifampicina constituyen los fármacos principales utilizados en los regímenes terapéuticos tradicionales; otros fármacos de primera elección son pirazinamida y etambutol. La resistencia a la INH y la rifampicina se considera farmacorresistencia múltiple. En Estados Unidos, la farmacorresistencia múltiple de *M. tuberculosis* (MDR-TB) ha

disminuido de modo considerable. En el mundo, la mayor tasa de tuberculosis (TB) resistente a múltiples fármacos proviene de los países de Europa Oriental, en especial entre las naciones de la antigua Unión Soviética. Uno de los factores principales para la farmacorresistencia durante el tratamiento es el incumplimiento terapéutico. La contención de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos constituye un problema importante en todo el mundo. De manera más reciente, la presencia de una cepa de TB (XDR-TB) en extremo resistente a múltiples fármacos constituye un importante obstáculo para el control mundial de la tuberculosis. Los microorganismos en cuestión, además de ser resistentes a INH y rifampicina, también los son a quinolonas y medicamentos inyectables, como los aminoglucósidos o la capreomicina (fármacos de segunda elección).

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

La actividad antimicrobiana se mide *in vitro* para establecer 1) la potencia de un antibiótico en solución; 2) la concentración del fármaco en líquidos corporales y tejidos y 3) la susceptibilidad de determinado microorganismo a una concentración conocida del fármaco.

FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

De los numerosos factores que modifican la actividad antimicrobiana *in vitro*, es importante tomar en consideración los siguientes, puesto que repercuten de manera notable en los resultados de las pruebas.

pH ambiental

Algunos fármacos son más activos a un pH ácido (p. ej., nitrofurantoína); otros, a un pH alcalino (p. ej., aminoglucósidos, sulfonamidas).

Componentes del medio

El polianetolsulfonato de sodio (en medio para hemocultivo) y otros detergentes aniónicos inhiben a los aminoglucósidos. En los extractos de tejido, el PABA antagoniza las sulfonamidas. Las proteínas séricas se fijan a las penicilinas en diversos grados, que varían de 40% para la meticilina a 98% para la dicloxacilina. La adición de NaCl al medio de cultivo facilita la detección de resistencia de *S. aureus* a meticilina.

Estabilidad del fármaco

A temperatura de incubadora, varios antibióticos pierden su actividad. Las penicilinas se inactivan con lentitud, mientras que los aminoglucósidos y la ciprofloxacina son muy estables durante un periodo prolongado.

Tamaño de la siembra

En general, entre mayor sea la siembra bacteriana, menor es la “sensibilidad” aparente del microorganismo. Una población grande de bacterias se inhibe con menos rapidez e integridad que una pequeña. Además, la probabilidad de que surja una mutante resistente es mucho mayor en una población grande.

Intervalo de incubación

En muchos casos, los microorganismos no son aniquilados sino sólo inhibidos cuando tienen contacto con el antibiótico durante un tiempo breve. Entre más prolongada sea la incubación, mayor la probabilidad de que surjan mutantes resistentes o de que los miembros menos sensibles de la población empiecen a multiplicarse conforme el fármaco se degrada.

Actividad metabólica de los microorganismos

En general, los microorganismos que proliferan de formas rápida y activa son más sensibles a la acción farmacológica en comparación con los que se encuentran en fase de reposo. Los microorganismos inactivos desde el punto de vista metabólico que sobreviven al contacto prolongado con un fármaco, en ocasiones, tienen descendencia que es sensible al mismo medicamento.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La sensibilidad de una bacteria patógena a un antibiótico se mide por medio de dos métodos principales: dilución o difusión. Es importante utilizar un método estandarizado que regule todos los factores que repercuten en la actividad antimicrobiana; en Estados Unidos, estas pruebas se realizan según los métodos del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (*CLSI*). Estas pruebas también se describen en el capítulo 47.

Al utilizar el microorganismo de prueba correcto y una muestra conocida del fármaco para fines de comparación, estos métodos se aplican para establecer la potencia del antibiótico en la muestra o la sensibilidad del microorganismo.

Método de dilución

En este método, se incorporan cantidades escalonadas de antibióticos a un medio bacteriológico líquido o sólido. Por lo general, se utilizan diluciones del doble ($\log_2$) de las sustancias antimicrobianas. Posteriormente, los medios se inoculan con bacterias de prueba y se incuban. El criterio de valoración corresponde a la cantidad de sustancia antimicrobiana necesaria para inhibir la proliferación de la bacteria de prueba o su aniquilación. Las pruebas de sensibilidad por dilución en agar son tardadas y su aplicación se limita a circunstancias especiales. Los métodos de dilución en caldo son lentos y difíciles; se usan sólo cuando se necesita hacer las diluciones en tubos de ensayo; sin embargo, el hecho de contar con conjuntos de este tipo ya preparados, respecto a muchos fármacos diversos en placas de microdilución manuales o automatizadas ha mejorado y simplificado el método de manera significativa. La ventaja de los métodos de microdilución en caldo es que permite el señalamiento de un resultado cuantitativo y con ello, la cantidad de un fármaco particular necesaria para inhibir o destruir (concentración bactericida mínima, MBC; *mínimum bactericidal concentration*) los microorganismos en estudio.

Método de difusión

El método más utilizado es la prueba de difusión en disco. Se coloca un disco de papel filtro que contiene determinada cantidad de un fármaco en la superficie de un medio sólido en el que se ha sembrado el microorganismo investigado. Después de la incubación, se mide el diámetro de la zona transparente de inhibición que rodea al disco como medida del poder de inhibición que tiene el fármaco contra el microorganismo investigado. Este método está sujeto a una serie de factores físicos y químicos además de la interacción simple entre el fármaco y el microorganismo (p. ej., la naturaleza del medio y el potencial de difusión, el tamaño molecular y la estabilidad del fármaco). Sin embargo, la estandarización de estas circunstancias permite establecer la sensibilidad del microorganismo.

La interpretación de los resultados de las pruebas de difusión se debe basar en comparaciones entre métodos de dilución y difusión. Estas comparaciones han ocasionado la creación de referencias estándar. Las curvas de regresión lineal expresan la relación entre el logaritmo de la concentración inhibidora mínima en las pruebas de dilución y el diámetro de las zonas de inhibición en los análisis de difusión.

Si se utiliza un solo disco para cada antibiótico con estandarización cuidadosa de las condiciones de la prueba, es posible establecer si un microorganismo es sensible o resistente al comparar el tamaño de la zona de inhibición con un valor estándar del mismo fármaco.

La inhibición alrededor de un disco que contiene cierta cantidad de un antibiótico no significa que el microorganismo sea sensible a esa misma concentración por mililitro de medio de cultivo, sangre u orina.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VIVO*

El análisis de la actividad del antibiótico *in vivo* es mucho más complejo que las circunstancias *in vitro*. La actividad abarca no sólo al fármaco y al microorganismo sino también a un tercer factor, el hospedador. En los siguientes párrafos, se describen las relaciones entre fármaco y microorganismo patógeno y entre hospedador y agente patógeno. Las relaciones entre hospedador y fármaco (absorción, excreción, distribución, metabolismo y efectos adversos) se describen principalmente en los textos de farmacología.

RELACIONES ENTRE FÁRMACO Y MICROORGANISMO PATÓGENO

En las páginas precedentes, se han descrito varias interacciones importantes entre el fármaco y el microorganismo patógeno. A continuación, se resumen otros factores importantes *in vivo*.

Ambiente

En el hospedador, las influencias ambientales variables repercuten en los microorganismos ubicados en los distintos tejidos y diferentes regiones del cuerpo, a diferencia del tubo de ensayo o la caja de Petri, donde el ambiente es constante para todos los miembros de una población microbiana. Por lo tanto, la respuesta de esta última es mucho menos uniforme en el hospedador que en el tubo de ensayo.

A. Estado de actividad metabólica

En el cuerpo, el estado de la actividad metabólica es variado (de manera indudable, muchos microorganismos tienen una actividad reducida de biosíntesis y, por consiguiente, son relativamente insensibles a la acción farmacológica). Estos microorganismos “latentes” a menudo sobreviven el contacto con una gran concentración de fármacos y posteriormente generan una recurrencia clínica de la infección.

B. Distribución del fármaco

En el cuerpo, la distribución del antibiótico en los tejidos y los líquidos es desigual. Muchos medicamentos no llegan al sistema nervioso central (SNC). A menudo la concentración en la orina es mucho mayor que en la sangre o los otros tejidos. Otras veces, la respuesta hística que induce el microorganismo lo protege del fármaco. El tejido necrótico y el pus absorben al fármaco e impiden su contacto con la bacteria.

C. Ubicación de los microorganismos

En el cuerpo, los microorganismos a menudo se ubican dentro de las células de los tejidos. Los fármacos penetran en estas células a distinta velocidad. Algunos (p. ej., tetraciclinas) alcanzan la misma concentración dentro de los monocitos y en el líquido extracelular. Otros (p. ej., gentamicina) tal vez no ingresan a las células del hospedador. Esto, a diferencia de lo que ocurre en el tubo de ensayo, donde los microorganismos tienen contacto directo con el fármaco.

D. Sustancias que interfieren

El ambiente bioquímico de los microorganismos en el cuerpo es muy complejo e interfiere de modo considerable con la acción farmacológica. Algunas veces el fármaco es retenido por la sangre y las proteínas o los fosfolípidos de los tejidos; otras veces, reacciona con los ácidos nucleicos del pus y es absorbido hacia exudados, células y restos necróticos. En el tejido necrótico, el pH llega a ser muy ácido y, por lo tanto, poco favorable para la acción farmacológica (p. ej., aminoglucósidos).

Concentración

En el cuerpo, los microorganismos no tienen contacto con una concentración constante de fármaco; en el tubo de ensayo, sí lo hacen.

A. Absorción

La absorción de los fármacos a partir del aparato digestivo (si se administran por vía oral) o de los tejidos (si se inyectan) es irregular. Además, el fármaco se excreta y desactiva de forma continua. Por consiguiente, la concentración del fármaco en los compartimentos del cuerpo varía de modo constante y los microorganismos tienen contacto con distintas concentraciones del antibiótico.

B. Distribución

La distribución de los fármacos varía de manera notable en los distintos tejidos. Algunos fármacos penetran muy poco en ciertos tejidos (p. ej., SNC, próstata). Por lo tanto, la concen-

tración del fármaco después de la administración sistémica no siempre es la correcta para el tratamiento eficaz. En las heridas superficiales o las mucosas, como conjuntivas, la aplicación local (tópica) de fármacos que se absorben muy poco permite alcanzar una concentración local efectiva sin tener efectos adversos. Por el contrario, algunos medicamentos que se administran por vía tópica en las heridas superficiales se absorben muy bien. Por lo general, la concentración de los fármacos en orina es mucho mayor que en la sangre.

C. Inestabilidad de la concentración

Es indispensable mantener una concentración efectiva del fármaco en el sitio donde proliferan los microorganismos infecciosos. Esta concentración se debe preservar durante el tiempo suficiente para erradicar a los microorganismos. Puesto que el fármaco se administra de manera intermitente y se absorbe y elimina de forma irregular, la concentración varía constantemente en el sitio de la infección. Para mantener una concentración suficiente del medicamento durante el tiempo necesario, se debe tomar en cuenta la relación tiempo-dosis. Entre mayor sea cada dosis del fármaco, mayor será el intervalo permisible entre las dosis. Entre menor sea cada dosis, más corto será el intervalo que asegure una concentración suficiente del fármaco.

D. Efecto posantibiótico

El efecto posantibiótico es la proliferación tardía de las bacterias después de haber sido expuestas a los antibióticos. Esta es una propiedad de la mayor parte de los antibióticos, pero muchos β lactámicos no muestran un efecto posantibiótico con los bacilos gramnegativos. Los carbapenémicos no generan efecto posantibiótico con dichos bacilos. Los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas tienen efectos posantibiótico *in vitro* prolongados (hasta de varias horas) contra los bacilos gramnegativos.

RELACIONES ENTRE HOSPEDADOR Y MICROORGANISMO PATÓGENO

Las relaciones entre el hospedador y el microorganismo patógeno son modificadas por los antibióticos de varias formas.

Modificación de la respuesta de los tejidos

La respuesta inflamatoria hística a las infecciones se modifica si el fármaco suprime la multiplicación de microorganismos aunque no los elimine del cuerpo. De esta manera, un trastorno agudo se transforma en uno crónico. Por el contrario, la supresión de las reacciones inflamatorias en los tejidos por un deterioro de la inmunidad celular en los receptores de trasplantes de tejidos, en los pacientes sometidos a tratamiento antineoplásico o en los sujetos inmunodeprimidos por alguna enfermedad (p. ej., sida) aumenta la predisposición a padecer infecciones y deteriora la respuesta a los antibióticos.

Modificación de la respuesta inmunitaria

Cuando una infección es modificada por un antibiótico, en ocasiones también se altera la respuesta inmunitaria del hospedador. Un ejemplo ilustra este fenómeno: después de una infección faríngea por estreptococo β hemolítico del grupo A, a menudo se presentan anticuerpos antiestreptocócicos y, en presencia de una respuesta hiperinmune, el paciente padece fiebre reumática. Cuando el proceso infeccioso se interrumpe de manera oportuna y se completa con un antibiótico, es posible evitar la respuesta inmunitaria y la fiebre reumática (al parecer, al eliminar rápidamente el antígeno). Los fármacos y las dosis que erradican con rapidez al estreptococo patógeno (p. ej., penicilina) son más eficaces para prevenir la fiebre reumática que aquellos que únicamente suprimen al microorganismo de forma temporal (p. ej., tetraciclinas).

Modificación de la microbiota

Los antibióticos repercuten no sólo en los microorganismos que causan enfermedades sino también en los miembros sensibles de la microbiota normal. De esta manera se crea un desequilibrio que en ocasiones causa una enfermedad. Los ejemplos siguientes son interesantes:

1. En los pacientes hospitalizados que reciben antibióticos, se suprime la microbiota normal. Se crea un vacío parcial que es llenado por los microorganismos más abundantes del ambiente, en especial bacterias aerobias gramnegativas farmacorresistentes (p. ej., seudomonas, estafilococos). Posteriormente estos microorganismos producen superinfecciones graves resistentes a fármacos.
2. En las mujeres que consumen antibióticos por vía oral, muchas veces se suprime la microbiota vaginal normal, lo cual permite el crecimiento excesivo de *Candida*. El resultado es una inflamación local desagradable (vulvovaginitis) con prurito difícil de contener.
3. La obstrucción urinaria propicia la tendencia a infecciones vesicales. Cuando tales infecciones urinarias son producidas por un microorganismo sensible (p. ej., *E. coli*) y se trata con el fármaco correspondiente, el microorganismo es erradicado. No obstante, muchas veces después de eliminar al microorganismo sensible al fármaco, se presenta una reinfección secundaria a causa de un bacilo gramnegativo farmacorresistente. Lo mismo sucede en las superinfecciones respiratorias de los pacientes que reciben antibióticos por una bronquitis crónica.
4. En las personas que utilizan antibióticos durante varios días, se suprimen algunas porciones de la microbiota intestinal normal. Ciertos microorganismos resistentes a los fármacos se establecen en el intestino y esto precipita una enterocolitis grave (p, ej., diarrea por antibióticos causada por *Clostridium difficile*).

APLICACIÓN CLÍNICA DE LOS ANTIBIÓTICOS

SELECCIÓN DE ANTIBIÓTICOS

La selección racional de éstos depende de las consideraciones siguientes.

Diagnóstico

Es necesario formular un diagnóstico etiológico específico. Con frecuencia esto es posible con base en la impresión clínica.

Por consiguiente, en la neumonía lobular típica o en la infección urinaria aguda, la relación entre el cuadro clínico y el microorganismo causal es lo suficientemente constante como para permitir la selección del antibiótico elegido con base en la impresión clínica exclusivamente. Sin embargo, incluso en estos casos y como medida de seguridad contra un error en el diagnóstico, es preferible obtener una muestra representativa para su estudio bacteriológico antes de empezar con cualquier antibiótico.

En la mayor parte de las infecciones, la relación entre el microorganismo causal y el cuadro clínico no es constante. Por consiguiente, es importante obtener las muestras correspondientes para la identificación bacteriológica del microorganismo causal. Tan pronto como se han obtenido estas muestras, se puede empezar con la farmacoterapia basada en la "mejor suposición". Después de identificar el microorganismo causal por medio de pruebas de laboratorio, el régimen inicial se modifica según sea necesario.

La "mejor suposición" del microorganismo causal se basa en las consideraciones siguientes, entre otras: 1) el sitio de la infección (p. ej., neumonía, infección urinaria); 2) la edad del paciente (p. ej., meningitis: recién nacido, preescolar, adulto); 3) el lugar donde se adquirió la infección (hospital o fuera de éste); 4) factores mecánicos predisponentes (catéter vascular a permanencia, sonda urinaria, respirador, contacto con algún vector) y 5) factores predisponentes del hospedador (inmunodeficiencia, uso de corticosteroides, trasplante, quimioterapia contra el cáncer).

Cuando se conoce el microorganismo causal de una infección clínica, el fármaco de elección se selecciona con base en la experiencia clínica actual. En los demás contextos, es necesario realizar un antibiograma (véase más adelante) para establecer el fármaco de elección.

Pruebas de sensibilidad

Está indicado realizar antibiogramas en las circunstancias siguientes: 1) cuando el microorganismo que se obtiene es de una variedad que suele ser resistente a los antibióticos (p. ej., bacterias intestinales gramnegativas); 2) cuando una infección probablemente es letal a menos que reciba tratamiento específico (p. ej., meningitis, septicemia) y 3) en ciertas infecciones donde la erradicación del microorganismo obliga a utilizar fármacos que son rápidamente bactericidas, no sólo bacteriostáticos (p. ej., endocarditis infecciosa). En la primera parte de este capítulo, se describieron los principios básicos de las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. En el capítulo 47, se resumen otros aspectos de los antibiogramas.

RIESGOS DEL USO INDISCRIMINADO

Las indicaciones para administrar antibióticos algunas veces se deben categorizar por las inquietudes siguientes:

1. Sensibilización generalizada de la población, con la resultante hipersensibilidad, anafilaxia, eritema, fiebre, trastornos hematológicos, hepatitis colestásica y quizá conjuntivopatías y vasculopatías.
2. Cambios en la microbiota normal del organismo, donde la enfermedad es resultado de una "superinfección" por la proliferación excesiva de microorganismos resistentes a fármacos.
3. Ocultamiento de una infección grave sin erradicarla (p. ej., las manifestaciones clínicas de un absceso se suprimen mientras la infección continúa).
4. Toxicidad directa del medicamento (p. ej., granulocitopenia o trombocitopenia con cefalosporinas y penicilinas y nefropatía o lesión del nervio auditivo por aminoglucósidos).
5. Desarrollo de farmacorresistencia en poblaciones microbianas, principalmente al eliminar a los microorganismos sensibles a los fármacos del ambiente saturado de antibióticos (p. ej., hospitales) y su sustitución por microorganismos farmacorresistentes.

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN COMBINACIÓN

Indicaciones

Las posibles razones para utilizar dos o más antibióticos de forma simultánea en lugar de un solo fármaco son las siguientes:

1. Administrar tratamiento inmediato a un paciente muy grave con sospecha de una infección microbiana peligrosa. Se hace una buena suposición, por lo general basada en el resultado del antibiograma, sobre los dos o tres microorganismos patógenos más probables y de esa manera se eligen los fármacos. Antes de iniciar este tratamiento, es indispensable obtener las muestras correspondientes para identificar al microorganismo causal en el laboratorio. Dos de las principales indicaciones en esta categoría son la sospecha de septicemia por gramnegativos o estafilococo en un paciente inmunodeprimido y la meningitis bacteriana en niños.
2. Para retrasar el surgimiento de mutantes microbianos resistentes a un fármaco en infecciones crónicas al utilizar un segundo o tercer fármaco que no tenga reacciones cruzadas. El ejemplo más notable es el tratamiento contra la tuberculosis activa.
3. Para tratar infecciones mixtas, en especial las que son consecutivas a un traumatismo masivo o las que abarcan estructuras vasculares. Cada fármaco se dirige contra un microorganismo patógeno importante.
4. Para obtener la sinergia bactericida o proporcionar acción bactericida (véase más adelante). En algunas infecciones, por ejemplo, septicemia enterocócica, una combinación de fármacos tiene más probabilidades de erradicar la infección que cualquiera de los medicamentos utilizados de forma aislada. Este tipo de sinergia se puede pronosticar sólo parcialmente y un determinado par de fármacos puede ser sinérgico únicamente para una sola cepa microbiana. En ocasiones, la aplicación simultánea de dos medicamentos permite reducir lo suficiente la dosis y de esta manera evitar los efectos adversos al conservar una acción antimicrobiana satisfactoria.

Desventajas

Al utilizar antibióticos combinados, se deben tomar en consideración las desventajas siguientes:

1. En ocasiones el médico piensa que, al administrar varios fármacos, está haciendo todo lo posible por el paciente, con lo cual se esfuerza menos para establecer un diagnóstico específico. Además, esto le da un sentimiento falso de seguridad.
2. Entre más fármacos se administran, mayor es la probabilidad de que ocurra una reacción farmacológica o de que el paciente se sensibilice a los medicamentos.
3. El costo es innecesariamente elevado.
4. Las combinaciones de antibióticos casi nunca logran más que un solo fármaco eficaz.
5. En raras ocasiones, un fármaco antagoniza al segundo medicamento que se administra de modo simultáneo (véase más adelante).

Mecanismos

Cuando dos antibióticos actúan de manera simultánea sobre una población microbiana homogénea, el efecto puede ser uno de los siguientes: 1) indiferencia, es decir, la acción combinada no es mayor que la del fármaco más efectivo cuando se utiliza de forma aislada; 2) adición, esto es, la acción combinada es equivalente a la suma de las acciones de cada fármaco cuando se utiliza de modo aislado; 3) sinergia, esto es, la acción combinada es mucho mayor que la suma de ambos efectos o 4) antagonismo, es decir, la acción combinada es menor que la del fármaco más eficaz cuando se utiliza de forma aislada. Todos estos efectos se pueden observar *in vitro* (especialmente desde el punto de vista del índice bactericida) e *in vivo*.

Los efectos que se obtienen con combinaciones de antibióticos varían con las distintas combinaciones y son específicos para cada cepa de microorganismo. Por lo tanto, ninguna combinación es sinérgica de manera uniforme.

El tratamiento combinado no se debe utilizar de forma indiscriminada; se debe hacer lo posible por usar un solo antibiótico de elección. En las infecciones resistentes, un análisis de laboratorio detallado define las combinaciones sinérgicas que son indispensables para erradicar a los microorganismos.

En distintos tipos de situaciones, ocurre **sinergia antimicrobiana**.

1. En ocasiones, dos medicamentos bloquean de manera secuencial una vía metabólica microbiana. Las sulfonamidas inhiben la utilización de PABA extracelular en algunos microbios para la síntesis de ácido fólico. El trimetoprim o la pirimetamina impiden el siguiente paso metabólico, la reducción de ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico. El uso simultáneo de una sulfonamida con trimetoprim es eficaz en algunas infecciones bacterianas (shigelosis, salmonelosis, especies de *Serratia*) y de otro tipo (neumocistosis, paludismo). En la toxoplasmosis, se utiliza la pirimetamina con una sulfonamida o clindamicina.
2. Algunos fármacos, como los inhibidores de la pared celular (penicilina o cefalosporinas), fomentan la entrada del aminoglucósido en la bacteria y de esta manera producen efectos sinérgicos. Las penicilinas favorecen la captación de gentamicina o estreptomicina en los enterococos. De esta manera, la ampicilina combinada con gentamicina es indispensable para la erradicación de *Enterococcus faecalis,* en especial en la endocarditis. Asimismo, la piperacilina con tobramicina son sinérgicos contra ciertas especies de *Pseudomonas*.
3. En ocasiones, un fármaco modifica la membrana celular y facilita la penetración de un segundo medicamento. De esta manera, el efecto combinado es mayor que la suma de sus partes. Por ejemplo, la anfotericina es sinérgica con la flucitocina contra algunos hongos (p. ej., *Cryptococcus*, especies de *Candida*).
4. Otras veces un fármaco impide la inactivación de un segundo medicamento a través de las enzimas microbianas. Sobre tal base, los inhibidores de la β lactamasa (como ácido clavulánico, sulbactama, tazobactama) protegen a amoxicilina, ticarcilina o piperacilina u otros fármacos β lactámicos de inactivación por parte de las β lactamasas. En tales circunstancias, surge una forma de sinergia.

El **antagonismo antimicrobiano** está limitado por las relaciones entre tiempo y dosis; por consiguiente, constituye un acontecimiento raro en la antibioticoterapia clínica. El antagonismo que provoca una mayor tasa de morbilidad y mortalidad se ha demostrado con gran claridad en la meningitis bacteriana. Ocurrió cuando un bacteriostático (que inhibe la síntesis de proteínas en las bacterias), como cloranfenicol o tetraciclina, se administró con un bactericida, como una penicilina o un aminoglucósido. El antagonismo se desarrolló principalmente cuando el bacteriostático llegaba al sitio de la infección antes que el bactericida; cuando era indispensable aniquilar para lograr la curación y únicamente si se habían administrado las dosis mínimas efectivas de cualquiera de los fármacos. Otro ejemplo es la combinación de lactámicos β en el tratamiento de las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* (p. ej., imipenem y piperacilina, en que el imipenem es un fuerte inductor de β lactamasa y ésta degrada a la piperacilina que es menos estable).

QUIMIOPROFILAXIA ANTIMICROBIANA

La quimioprofilaxia antiinfecciosa implica la administración de antibióticos para evitar las infecciones. En un sentido más amplio, también comprende la utilización de antibióticos poco después de adquirir microorganismos patógenos (p. ej., después de una fractura expuesta), pero antes de que se produzcan los signos de infección.

La quimioprofilaxia útil se limita a la acción de un fármaco específico sobre cierto microorganismo. El intento de evitar que cualquier tipo de microorganismo ambiental se establezca por sí mismo, sólo selecciona a los microorganismos más resistentes a los fármacos como causa de una infección ulterior. En las aplicaciones propuestas de los antibióticos profilácticos, el riesgo de que un paciente adquiera la infección se debe comparar con sus efectos adversos, costos, inconveniencias y mayor riesgo de una superinfección a causa del medicamento profiláctico.

Profilaxia en personas con susceptibilidad normal expuestas a un microorganismo patógeno específico

En esta categoría, se proporciona un medicamento específico para prevenir cierta infección. Ejemplos particulares incluyen la inyección intramuscular de penicilina G benzatínica una vez cada tres a cuatro semanas, para evitar la reinfección con estreptococos hemolíticos del grupo A en enfermos reumáticos; la prevención de meningitis al erradicar el estado de portador meningocócico con rifampicina y ciprofloxacina; la prevención de la sífilis por medio de la inyección de penicilina G benzatínica; la prevención de la neumonía por peste a causa de la ingestión de tetraciclina en sujetos expuestos a gotitas infectantes; la profilaxia de la leptospirosis por la administración por vía oral de doxiciclina en un entorno hiperendémico y la prevención del paludismo en sujetos que viajan a áreas endémicas del mundo, con diversos fármacos como atovacuona con proguanilo.

El tratamiento inmediato de una infección asintomática en ocasiones se denomina *profilaxia*. De esta manera, la administración de INH, 6 a 10 mg/kg/día (máximo 300 mg/día) por vía oral durante seis meses en una persona asintomática cuya prueba cutánea de la tuberculina se torna positiva, previene la tuberculosis activa más adelante.

Profilaxia en personas con mayor susceptibilidad

Ciertas anomalías anatómicas o funcionales predisponen a padecer infecciones graves. Estas infecciones se pueden prevenir o bien abortar administrando determinado fármaco durante un periodo corto. A continuación se describen algunos ejemplos importantes.

A. Cardiopatías

Los individuos con anomalías de las válvulas cardiacas o con prótesis valvulares cardiacas tienen mayor predisposición a la implantación de los microorganismos que circulan en el torrente sanguíneo. Esta endocarditis infecciosa se puede prevenir en ocasiones si se administra el fármaco correcto en el curso de los periodos de bacteriemia. Durante los tratamientos dentales y los procedimientos de boca o garganta, un gran número de *Streptococcus viridans* entra en la circulación. En estas circunstancias, el riesgo justifica la administración de algún antibiótico profiláctico contra este microorganismo. Por ejemplo, la amoxicilina oral antes del procedimiento 2 h después es efectiva. Las personas alérgicas a la penicilina pueden recibir un macrólido o la clindamicina por vía oral (consúltense las recomendaciones de la *American Heart Association* en htpp://circ.ahajournals.org/content/118/8/887). Las recomendaciones para profilaxia después de técnicas extraodontológicas varían con el tipo de anomalía valvular. Por ejemplo, ya no se recomienda la profilaxia después de técnicas en el tubo digestivo o las vías genitourinarias en sujetos con valvulopatía reumática, pero aún puede estar indicada en individuos con cardiopatías congénitas o en aquellos que tienen prótesis. Se deben consultar las guías recientes de AHA en busca de recomendaciones actualizadas.

B. Infecciones de las vías respiratorias

El trimetoprim-sulfametoxazol por vía oral o la pentamidina por aerosol se utilizan para la profilaxia en caso de neumonía por *Pneumocystis* en los pacientes con sida.

C. Infección urinaria recurrente

En algunas mujeres que sufren infecciones urinarias recurrentes y frecuentes, la administración oral de nitrofurantoína o trimetoprim-sulfametoxazol, ya sea diariamente o tres veces por semana, reduce de modo notable la frecuencia de las recurrencias sintomáticas durante periodos prolongados.

Algunas mujeres tienden a manifestar síntomas de cistitis después del coito. La ingestión de una sola dosis de un antibiótico (nitrofurantoína, trimetoprim-sulfametoxazol y otros) previene la cistitis posterior al coito al inhibir de inmediato la proliferación de las bacterias que se desplazan del introito hacia el tercio proximal de la uretra o la vejiga durante las relaciones sexuales.

D. Infecciones oportunistas en la granulocitopenia grave

Muchos pacientes con inmunodepresión que reciben trasplante de un órgano o quimioterapia antineoplásica manifiestan leucopenia pronunciada. Cuando el recuento de neutrófilos desciende por debajo de 1 000/µl, estos individuos son muy propensos a padecer infecciones oportunistas, por lo general septicemia por gramnegativos. En estas personas, en ocasiones se administra fluoroquinolona, cefalosporina o una combinación de fármacos (p. ej., vancomicina, gentamicina, cefalosporina) contra los oportunistas más frecuentes desde el primer signo (o incluso sin evidencia clínica) de infección. El tratamiento se prolonga durante varios días hasta que el recuento de granulocitos se eleva de nuevo. Diversos estudios sugieren que el tratamiento empírico es favorable. Los dos casos clínicos: trasplantes hepático y de médula ósea, que se describen en el capítulo 48, ilustran las infecciones que ocurren en estos pacientes y los antibióticos utilizados para la profilaxia y el tratamiento.

Profilaxia en cirugía

Gran parte de los antibióticos utilizados en los hospitales se emplea en los servicios de cirugía y su supuesto objetivo es la profilaxia.

Vale la pena mencionar diversas características generales de la profilaxia quirúrgica:

1. Se ha corroborado el beneficio de los antimicrobianos con fines profilácticos en caso de cirugía en condiciones higiénicas.
2. El tipo de antimicrobiano que se seleccione depende de varios factores: tipo de cirugía y la identificación de la microbiota endógena; tipo de patógenos que ocasionan infecciones de las incisiones y sus perfiles de resistencia en alguna institución particular; alergias del paciente; penetración del fármaco en el sitio operado; costo y otras consideraciones.
3. Los fármacos preferidos son las cefalosporinas y muy comúnmente la cefazolina.

CUADRO 28-2 Desinfectantes químicos, antisépticos y antibióticos tópicos

Desinfección del ambiente inanimado	
Cubiertas, instrumentos	Lysol y otros compuestos fenólicos Formaldehído Glutaraldehído acuoso Compuestos de amonio cuaternario
Excretas, apósitos, orinales	Hipoclorito de sodio Lysol y otros compuestos fenólicos
Aire	Propilenglicol pulverizado o en aerosol Vapor de formaldehído
Instrumentos termosensibles	Gas de óxido de etileno (alquila los ácidos nucleicos; el gas residual debe eliminarse por medio de ventilación)
Desinfección de la piel o las heridas	Lavar con agua y jabón Jabones o detergentes que contengan hexaclorofeno, triclocarbanilida o clorhexidina Tintura de yodo Alcohol etílico; alcohol isopropílico Yodo-povidona (hidrosoluble) Perácidos (peróxido de hidrógeno, ácido peracético) Gel o solución de nitrofurazona
Fármacos tópicos para la piel o las mucosas	
Candidosis	Crema de nistatina Pomada de candicidina Cremas de miconazol
Quemaduras	Crema de acetato de mafenida Sulfadiazina argéntica
Dermatofitosis	Polvo o crema de ácido undecilénico Crema de tolnaftato Crema de azol
Pioderma	Pomada de bacitracina-neomicina-polimixina Permanganato de potasio
Pediculosis	Loción de malatión o permetrina
Descolonización nasal	Mupirocina
Aplicación tópica de fármacos oculares	
Profilaxia de gonorrea	Pomada de eritromicina o tetraciclina
Conjuntivis bacteriana	Pomada de sulfacetamida Pomada de gentamicina o tobramicina Pomada de ciprofloxacina Solución oftálmica de moxifloxacina Solución de gatifloxacina Solución de levofloxacina

4. La meta con la administración de fármacos profilácticos es asegurar que se obtienen concentraciones hísticas del fármaco adecuadas durante todo el método quirúrgico; para ello se puede necesitar repetir la dosis durante procedimientos prolongados (consúltese la lista de recomendaciones respecto a fármacos y posologías en De Bratzler *et al.*).
5. La primera dosis de un antibiótico profiláctico con acción sistémica debe administrarse en un término de 60 min practicada la incisión o de 120 min si se utilizan vancomicina o una fluoroquinolona.
6. El uso prolongado de antibióticos tiende a modificar la microbiota normal de los órganos y los sistemas, al suprimir a los microorganismos propensos y al favorecer la implantación de los fármacos resistentes. Por consiguiente, la profilaxia antimicrobiana no se debe prolongar más de 24 h después del procedimiento y lo ideal es limitarla al momento de la cirugía.
7. La concentración general del antibiótico no suele evitar la infección de las heridas, la neumonía ni las infecciones urinarias cuando existen anomalías fisiológicas o cuerpos extraños.

La utilidad de los antibióticos tópicos para profilaxia (en el sitio del catéter intravenoso, el sistema cerrado de drenaje urinario, dentro de una herida quirúrgica, en el cemento óseo de acrílico, etc.) es muy limitada.

Los estudios más recientes han demostrado una mayor tasa de morbilidad y mortalidad con las infecciones posquirúrgicas de la herida por *S. aureus*, en especial cuando la infección es causada por una cepa de MRSA. En muchos hospitales, se realizan pruebas de detección en las narinas antes de la intervención quirúrgica en busca de MRSA por medio de cultivo o detección de ácidos nucleicos. Los pacientes colonizados reciben tratamiento con pomada de mupirocina en las narinas durante tres a cinco días y clorhexidina durante el baño para eliminar la colonización antes del procedimiento. Algunos investigadores recomiendan agregar vancomicina a una cefalosporina para la profilaxia transoperatoria en pacientes que son portadores de MRSA.

Desinfectantes

Los desinfectantes y los antisépticos difieren de los antibióticos activos de forma sistémica en el sentido de que poseen una toxicidad selectiva reducida; son tóxicos no sólo para los microorganismos patógenos sino también para la mayor parte de las células del hospedador. Por lo tanto, sólo se utilizan para desactivar a los microorganismos en el ambiente inanimado o, en grado limitado, sobre las superficies cutáneas. No se pueden utilizar por vía sistémica.

La acción antimicrobiana de los desinfectantes depende de su concentración, el tiempo y la temperatura y la valoración de su efecto es compleja. En el cuadro 28-2, se muestran algunos ejemplos de desinfectantes utilizados en medicina o salud pública.

ANTIBIÓTICOS QUE SE ADMINISTRAN POR VÍA SISTÉMICA

En el cuadro 28-3, se muestra una lista de microorganismos infecciosos y los fármacos de elección principales y sus alternativas.

PENICILINAS

Las penicilinas se derivan de mohos del género *Penicillium* (p. ej., *Penicillum notatum*). La penicilina natural más utilizada es la penicilina G. Ya se ha logrado aislar ácido 6-aminopenicilánico a gran escala a partir de infusiones fermentadas de *Penicillium*. De esta manera es posible sintetizar una variedad

CUADRO 28-3 Fármacos más adecuados contra microorganismos patógenos sospechados o identificados

Agente causal sospechado o identificado	Fármacos de primera elección	Fármacos alternativos
Cocos gramnegativos		
Moraxella catarrhalis	Cefuroxima, una fluoroquinolona[a]	TMT-SMZ,[b] cefotaxima, ceftizoxima, cefpodoxima, una eritromicina,[c] doxiciclina,[d] azitromicina, amoxicilina-ácido clavulánico, claritromicina
Neisseria gonorrhoeae (gonococos)	Ceftriaxona, además azitromicina o doxiciclina	Cefixima y además azitromicina o doxiciclina
Neisseria meningitidis (meningococo)	Penicilina G[e]	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cloranfenicol y una fluoroquinolona
Cocos grampositivos		
Streptococcus pneumoniae (neumococos)[g]	Penicilina G[e] o V; amoxicilina	Una eritromicina[c], una cefalosporina[f], vancomicina, TMP-SMZ[b], clindamicina, azitromicina, claritromicina, una tetraciclina[d], imipenem, meropenem, doripenem o ertapenem, quinupristina-dalfopristina, algunas fluoroquinolonas[a], linezolida, televancina
Streptococcus, hemolíticos de los grupos A, B, C, G	Penicilina G[e] o V; ampicilina	Una eritromicina[c], una cefalosporina[f], vancomicina, clindamicina, azitromicina, claritromicina, linezolida, daptomicina, televancina
Estreptococos viridans	Penicilina G[e] ± gentamicina	Una cefalosporina[f], vancomicina, televancina
Staphylococcus, resistente a meticilina	Vancomicina ± gentamicina ± rifampicina	TMP-SMZ[b], doxiciclina, una fluoroquinolona[a], linezolida, quinupristina-dalfopristina, daptomicina, tigeciclina, ceftarolina, nuevos lipoglicopéptidos
Staphylococcus, que no produce penicilinasa	Penicilina[e]	Una cefalosporina[g], vancomicina, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona[a], clindamicina
Staphylococcus, productor de penicilinasa y susceptible a la meticilina	Penicilina[b] resistente a la penicilinasa[h]	Vancomicina, una cefalosporina[f], clindamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona[a], TMP-SMZ[b], daptomicina, linezolida, televancina
Enterococcus faecalis	Ampicilina + gentamicina[j]	Vancomicina + gentamicina o estreptomicina; linezolida, daptomicina, quinupristina-dalfopristina, televancina, tigeciclina, nuevos lipoglicopéptidos
Enterococcus faecium (susceptible a vancomicina)	Vancomicina + gentamicina[i]	Quinupristina-dalfopristina, linezolida; daptomicina
Enterococcus faecium (resistente a vancomicina)	Linezolida o quinupristina-dalfopristina	Daptomicina + aminoglucósido; doxiciclina
Bacilos gramnegativos		
Acinetobacter	Imipenem o meropenem	Doxiciclina, TMP-SMZ[b], doxiciclina, aminoglucósidos[j], ceftazidima, ciprofloxacina[a], piperacilina-tazobactam, ticarcilina-clavulanato, sulbactam, colistina, tigeciclina
Prevotella, cepas bucofaríngeas	Clindamicina	Penicilina[e], metronidazol, cefoxitina, cefotetán
Bacteroides	Metronidazol	Imipenem, meropenem, ertapenem, ticarcilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam; amoxicilina-clavulanato
Brucella	Tetraciclina + rifampicina[d]	TMP-SMZ[b] ± gentamicina; cloranfenicol ± gentamicina; doxiciclina + gentamicina; ciprofloxacina + rifampicina
Campylobacter jejuni	Eritromicina[c] o azitromicina	Una fluoroquinolona[a], tetraciclina[d]
Enterobacter	Imipenem, meropenem o cefepima	Aminoglucósido, ciprofloxacina, piperacilina-tazobactam, TMP-SMZ[b], aztreonam, una cefalosporina de la tercera generación, tigeciclina, aztreonam
Escherichia coli (septicemia)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Imipenem, meropenem, doripenem o ertapenem, aminoglucósido[j], una fluoroquinolona[a], piperacilina-tazobactam
Escherichia coli (infección no complicada en vías urinarias)	TMP-SMZ[b], nitrofurantoína	Fluoroquinolonas[a], cefalosporina oral, fosfomicina

(*continúa*)

CUADRO 28-3 Fármacos más adecuados contra microorganismos patógenos sospechados o identificados (*continuación*)

Agente causal sospechado o identificado	Fármacos de primera elección	Fármacos alternativos
Haemophilus (meningitis y otras infecciones graves)	Cefotaxima, ceftriaxona	Cloranfenicol, meropenem
Haemophilus (infecciones de aparato respiratorio, otitis)	Amoxicilina-clavulanato	Ampicilina, amoxicilina, doxiciclina, azitromicina, claritromicina, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefuroxima, cefuroxima axetilo, una fluoroquinolona, una tetraciclina, TMP-SMZ[b]
Helicobacter pylori	Inhibidor de la bomba de protones + claritromicina + amoxicilina o metronidazol	Subsalicilato de bismuto + metronidazol + clorhidrato de tetraciclina + inhibidor de bomba de protones o antagonista de H_2
Klebsiella pneumoniae	Cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, o ceftazidima	TMP-SMZ,[b] aminoglucósido,[j] imipenem, meropenem, doripenem o ertapenem, una fluoroquinolona[a], piperacilina-tazobactam, aztreonam, ticarcilina-clavulanato, tigeciclina
Legionella (neumonía)	Azitromicina o fluoroquinolonas ± rifampicina	TMP-SMZ[b], doxiciclina ± rifampicina, eritromicina
Proteus mirabilis	Ampicilina	Un aminoglucósido[j], TMP-SMZ[b], una fluoroquinolona[d], una cefalosporina[f], imipenem, meropenem, doripenem o ertapenem, piperacilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam; cloranfenicol
Proteus vulgaris y otras especies (*Morganella, Providencia*)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Aminoglucósido[j], TMP-SMZ[b], una fluoroquinolona[a], imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem, aztreonam, ticarcilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulanato
Pseudomonas aeruginosa	Aminoglucósido[j] + una penicilina antiseudomónica[k]	Ceftazidima ± aminoglucósido; imipenem, meropenem o doripenem ± aminoglucósido; aztreonam ± aminoglucósido; ciprofloxacina; cefepima
Burkholderia pseudomallei (melioidosis)	Ceftazidima, imipenem	Cloranfenicol ± tetraciclina[d], TMP-SMZ[b], amoxicilina-ácido clavulánico, meropenem
Burkholderia mallei (muermo)	Estreptomicina + una tetraciclina[d]	Cloranfenicol + estreptomicina; imipenem
Salmonella (bacteriemia)	Cefotaxima, ceftriaxona o una fluoroquinolona[a]	TMP-SMZ[b], ampicilina, cloranfenicol
Serratia	Imipenem o meropenem	TMP-SMZ,[b] aminoglucósido[j], una fluoroquinolona[a], ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima, ceftazidima, cefepima
Shigella	Una fluoroquinolona[a]	Ampicilina, TMP-SMZ[b], ceftriaxona, azitromicina
Vibrio (cólera, septicemia)	Azitromicina o eritromicina, Tetraciclina[d]	TMP-SMZ[b], una fluoroquinolona[a]
Yersinia enterocolitica	Tetraciclina, TMP-SMX	Una fluoroquinolona, un aminoglucósido, cefotaxima
Yersinia pestis (peste)	Estreptomicina o gentamicina ± doxiciclina	Tetraciclina, cloranfenicol, TMP-SMZ[b], ciprofloxacina, gentamicina, levofloxacina
Bacilos grampositivos		
Actinomyces	Penicilina[a]	Doxiciclina[d], clindamicina, eritromicina
Bacillus (incluido el carbunco)	Penicilina[e] (ciprofloxacina o doxiciclina contra el carbunco)	Eritromicina[c], tetraciclina[d], una fluoroquinolona[a]
Bacillus anthracis	Ciprofloxacina, una tetraciclina	Penicilina G, amoxicilina, eritromicina, imipenem, clindamicina, levofloxacina
Bacillus cereus (subtilis)	Vancomicina	Imipenem o meropenem, clindamicina
Clostridium (p. ej., el que causa la gangrena gaseosa o el tétanos)	Penicilina G[e], clindamicina	Metronidazol, cloranfenicol, imipenem, meropenem, doripenem o ertapenem
Corynebacterium diphtheriae	Eritromicina[c]	Penicilina G[e]
Corynebacterium jeikeium	Vancomicina	Penicilina G + gentamicina, eritromicina
Listeria monocytogenes	Ampicilina ± aminoglucósido[j]	TMP-SMZ[b]

(*continúa*)

CUADRO 28-3 Fármacos más adecuados contra microorganismos patógenos sospechados o identificados (*continuación*)

Agente causal sospechado o identificado	Fármacos de primera elección	Fármacos alternativos
Bacilos acidorresistentes		
Mycobacterium tuberculosis[l]	INH + rifampicina + pirazinamida + etambutol	Una fluoroquinolona; cicloserina, capreomicina o kanamicina o amikacina; etionamida; PAS
Mycobacterium leprae	Dapsona + rifampicina ± clofazimina	Minociclina; ofloxacina, claritromicina
Mycobacterium kansasii	INH + rifampicina ± etambutol o estreptomicina	Etionamida; cicloserina; claritromicina o azitromicina
Complejo de *Mycobacterium avium*	Claritromicina o azitromicina + uno o más de los siguientes: etambutol ± rifabutina	Amikacina, ciprofloxacina
Mycobacterium fortuitum-chelonae	Amikacina + claritromicina	Cefoxitina, sulfonamida, doxiciclina, linezolida, rifampicina, etambutol
Nocardia	TMP-SMZ[b]	Imipenem o meropenem, sulfisoxazol, linezolida, una tetraciclina, amikacina; ceftriaxona; cicloserina
Espiroquetas		
Borrelia burgdorferi (enfermedad de Lyme)	Doxiciclina, amoxicilina, cefuroxima axetilo	Ceftriaxona, cefotaxima, penicilina G, azitromicina, claritromicina
Borrelia recurrentis (fiebre recurrente)	Doxiciclina[d] u otra tetraciclina	Penicilina[e] G, eritromicina
Leptospira	Penicilina G[e]	Doxiciclina[d], ceftriaxona
Treponema palllidum (sífilis)	Penicilina G[e]	Doxiciclina, ceftriaxona
Treponema pertenue (pian)	Penicilina G[e]	Doxiciclina[d]
Micoplasmas	Eritromicina[c] o doxiciclina; claritromicina; azitromicina	Una fluoroquinolona
Chlamydiae		
Chlamydia psittaci	Una tetraciclina	Cloranfenicol
Chlamydia trachomatis (uretritis o enfermedad inflamatoria pélvica)	Doxiciclina o azitromicina	Ofloxacina; eritromicina; amoxicilina
Chlamydia pneumoniae	Una tetraciclina, eritromicina[c], claritromicina, azitromicina	Una fluoroquinolona[a,m]
Rickettsias	Doxiciclina	Cloranfenicol, una fluoroquinolona[a]

[a] Las fluoroquinolonas incluyen ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, y otras más (véase texto). Gemifloxacina, levofloxacina y moxifloxacina poseen la máxima actividad contra microorganismos grampositivos, incluidos *S. pneumoniae* resistente a la penicilina y *S. aureus* susceptible a meticilina. La actividad contra enterococos y *S. epidermidis* es variable. La ciprofloxacina muestra su máxima actividad contra *P. aeruginosa*.

[b] TMP-SMZ es una mezcla de una parte de trimetoprim y cinco partes de sulfametoxazol.

[c] El estolato de eritromicina se absorbe mejor después de ingerido, pero conlleva el máximo riesgo de ocasionar hepatitis; también se dispone de estearato y etilsuccinato de eritromicina.

[d] Todas las tetraciclinas muestran actividad similar contra casi todos los microorganismos. La minociclina (y su derivado tigeciclina) y la doxiciclina muestran mayor actividad contra *S. aureus*. La dosis depende de la rapidez de absorción y excreción de diversos preparados. No se recomienda usar tales fármacos en embarazadas o en niños menores de 8 años de edad.

[e] La penicilina G es el fármaco preferido para inyección parenteral; la penicilina V lo es para administración oral (se utiliza solamente para tratar infecciones causadas por microorganismos altamente susceptibles).

[f] Casi todas las cefalosporinas intravenosas (con la excepción de la ceftazidima) muestran actividad importante contra cocos grampositivos.

[g] Se han descrito resistencias de niveles intermedio o alto a la penicilina. Las infecciones causadas por cepas con resistencia intermedia pueden reaccionar a dosis altas de penicilina, cefotaxima o ceftriaxona. Las infecciones originadas por cepas altamente resistentes deben tratarse con vancomicina ± rifampicina o linezolida, quinupristina-dalfopristina o televancina. Muchas cepas de neumococos resistentes a penicilina lo son a la eritromicina, los macrólidos, el TMP-SMZ y al cloranfenicol.

[h] Nafcilina o oxacilina parenterales; dicloxacilina, cloxacilina u oxacilina orales.

[i] La adición de gentamicina está indicada únicamente contra infecciones graves por enterococos (p. ej., endocarditis, meningitis).

[j] Los aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina) deben seleccionarse con base en las características locales de susceptibilidad de los microorganismos.

[k] Penicilinas antiseudomónicas: ticarcilina, piperacilina.

[l] La resistencia puede constituir un problema y hay que hacer estudios de susceptibilidad (antibioticogramas).

[m] La ciprofloxacina tiene menor actividad contra clamidias en comparación con las nuevas fluoroquinolonas.

INH, isoniazida; PAS, (*para–aminosalicylic acid*), ácido paraaminosalicílico; TMP-SMZ, trimetoprim-sulfametoxazol.

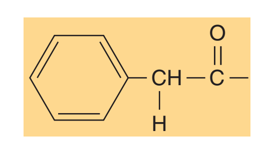
Modificada con autorización de *Treatment Guidelines from The Medical Letter,* 2010;8(94);43.www.medicalletter.org. Data from *Treatment Guidelines from The Medical Letter* 2013;11(131):65-74.

Sitio de acción de la amidasa

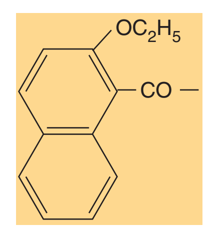
Sitio de acción de la penicilinasa (rotura del anillo lactámico β)

Ácido 6-aminopenicilánico

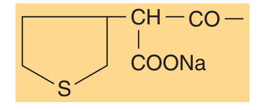
Cada una de las estructuras siguientes puede ser sustituida en R para producir una nueva penicilina.



Penicilina G (bencilpenicilina):
Gran actividad contra bacterias grampositivas
Poca actividad contra bacterias gramnegativas
Lábil en ácido. Destruida por β lactamasa
60% unida a proteínas



Nafcilina (etoxinaftamidopenicilina):
Similar a las isoxazolilpenicilinas. Unida con menos fuerza a proteínas (90%). Administración oral o intravenosa. Resistente a la β lactamasa estafilocócica.



Ticarcilina:
Similar a la carbencilina, pero alcanza una concentración sanguínea más elevada. La acción contra aerobios gramnegativos de la piperacilina, azclocilina y mezclocilina es similar a la de la ticarcilina.

Oxacilina (sin átomos de Cl); cloxacilina (un átomo Cl en su estructura); dicloxacilina (2 átomos de Cl en su estructura); flucloxacilina (un átomo de Cl y uno F en su estructura) (isoxazolilpenicilinas):
Similares a la meticilina en cuanto a su resistencia a la lactamasa, pero estables en ácido. Se pueden administrar por vía oral.
Gran porcentaje unido a proteínas (95 a 98%).

Ampicilina (α-aminobencilpenicilina):
Similar a la penicilina G (destruida por la β lactamasa), pero estable en ácido y más activa contra bacterias gramnegativas.
La carbencilina tiene un grupo —COONa en lugar de —NH_2.

Amoxicilina:
Similar a la ampicilina, pero mejor absorción y mayor concentración sanguínea.

FIGURA 28-1 Estructuras de algunas penicilinas. R, cadena lateral.

casi ilimitada de compuestos a base de penicilina, al combinar el grupo amino libre del ácido penicilánico con el grupo carboxilo libre de distintos radicales.

Las penicilinas comparten la misma estructura básica (véase el ácido 6-aminopenicilánico en la figura 28-1). Un anillo de tiazolidina se adhiere al anillo lactámico β que transporta un grupo amino libre. Los radicales ácidos adheridos al grupo amino se separan por medio de amidasas bacterianas y de otro tipo. La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico es indispensable para la actividad biológica de los compuestos. Si el anillo lactámico β se divide por medio de β lactamasas (penicilinasas), el producto resultante, el ácido peniciloico, carece de actividad antibacteriana. No obstante, transporta un determinante antigénico de las penicilinas y actúa como hapteno sensibilizador cuando se une a proteínas portadoras.

Los radicales (R) distintos adheridos al ácido aminopenicilánico determinan las propiedades farmacológicas esenciales de los fármacos resultantes. Desde el punto de vista clínico, las penicilinas importantes pertenecen a cinco grupos principales: 1) las de máxima actividad contra microorganismos grampositivos, espiroquetas y otras más; las penicilinas naturales son susceptibles a la hidrólisis por acción de la β lactamasas y muestran labilidad a ácidos (como la penicilina G); 2) las que muestran resistencia relativa a la acción de β lactamasas, pero menor actividad contra microorganismos grampositivos y ausencia de actividad ante microorganismos gramnegativos (como nafcilina, meticilina, oxacilina); 3) aminopenicilinas

con actividad relativamente grande contra grampositivos y gramnegativos, pero son destruidas por β lactamasas (como ampicilina, amoxicilina); 4) ureidopenicilinas que poseen actividad contra especies de *Pseudomonas* y otros bacilos gramnegativos resistentes (piperacilina); y 5) carboxipenicilinas que no se distribuyen ya en Estados Unidos (como carbenicilina, ticarcilina). La mayor parte de las penicilinas se distribuye en forma de sales de sodio o potasio del ácido libre. La penicilina G potásica contiene cerca de 1.7 meq de K^+ por millón de unidades (2.8 meq/g). Se dispone de sales procaínicas y benzatínicas de penicilina de depósito para inyección intramuscular. En su presentación seca, las penicilinas son estables pero las soluciones pierden rápidamente su actividad, por lo cual se deben preparar inmediatamente antes de su administración.

Actividad antimicrobiana

El primer paso en la acción de la penicilina es la unión del fármaco con los receptores celulares. Estos receptores son PBP, algunas de las cuales son enzimas que participan en reacciones de transpeptidación. Se conocen entre tres y seis (o más) PBP por célula. Una vez que las moléculas de penicilina se adhieren a los receptores, se inhibe la síntesis de peptidoglucano cuando se bloquea la transpeptidación final. El último acontecimiento bactericida es la eliminación o la inactivación de un inhibidor de las enzimas autolíticas en la pared celular. Esto activa las enzimas autolíticas, lo cual genera lisis celular. De esta manera, los lactámicos β inhiben a los microorganismos con una función defectuosa de la autolisina, pero no los aniquila y, por consiguiente, se dice que son "tolerantes".

Puesto que la acción de la penicilina requiere una síntesis activa de la pared celular, los microorganismos sin actividad metabólica no son sensibles.

La penicilina G y la penicilina V suelen medirse en unidades (1 millón de unidades = 0.6 g), pero las penicilinas semisintéticas se miden en gramos. Si bien 0.002 a 1 μg/ml de penicilina G es letal para la mayor parte de los microorganismos grampositivos sensibles, se necesita entre 10 y 100 veces más para aniquilar bacterias gramnegativas (con excepción de *Neisseria*).

Resistencia

La resistencia a las penicilinas puede ser de diversas categorías:

1. Producción de β lactamasas en los estafilococos, bacterias gramnegativas, *Haemophilus* sp., gonococos y otros. Se conocen más de 50 β lactamasas y su producción es regulada por plásmidos bacterianos. Algunas β lactamasas son inducibles por las cefalosporinas más modernas.
2. Ausencia de PBP o alteración de las mismas (como neumococos, enterococos) o inaccesibilidad de PBP a causa de barreras a la permeabilidad propias de las membranas exteriores bacterianas (más comunes en bacterias gramnegativas). Suelen estar bajo control cromosómico.
3. Expulsión del fármaco, de la célula. Los genes que codifican tales bombas son frecuentes en bacterias gramnegativas (como *OprD* en *P. aeruginosa*).
4. Incapacidad para sintetizar peptidoglucanos, como ocurre en micoplasmas, formas L o bacterias metabólicamente inactivas.

Absorción, distribución y excreción

Después de aplicación intramuscular o intravenosa, la absorción de casi todas las penicilinas es rápida y completa. Después de ingerirlas su absorción es variable y varía de 15 a 80% su estabilidad en ácido, unión a alimentos, presencia de amortiguadores y otros factores. La amoxicilina se absorbe de forma satisfactoria. Una vez absorbidas, las penicilinas se distribuyen ampliamente en tejidos y líquidos corporales.

Se han diseñado presentaciones posológicas especiales para retrasar la absorción y con ello conseguir que la concentración del fármaco permanezca estable durante un periodo prolongado. Después de una sola dosis intramuscular de penicilina benzatínica de 1.5 g (2.4 millones de unidades), la concentración sérica de 0.03 U/ml se mantiene durante 10 días y la concentración de 0.005 U/ml permanece durante tres semanas. La penicilina procaínica por vía intramuscular proporciona una concentración terapéutica durante 24 h.

En muchos tejidos, las concentraciones de penicilina son similares a las del suero. En los ojos, la próstata y el SNC, la concentración es menor. No obstante, en la meningitis la penetración aumenta, alcanzando una concentración de 0.5 a 5 μg/ml en el líquido cefalorraquídeo (LCR) con una dosis parenteral diaria de 12 gramos.

La mayor parte de las penicilinas se elimina con rapidez a través del riñón. Cerca de 10% de la excreción renal se lleva a cabo por filtración glomerular y 90% por secreción tubular. Esta última se impide parcialmente con el probenecid para lograr una concentración mayor tanto sistémica como en el LCR. En el recién nacido y las personas con insuficiencia renal, la excreción de penicilina disminuye y la concentración sistémica permanece elevada durante un tiempo más prolongado. Algunas penicilinas (p. ej., nafcilina) se eliminan principalmente por mecanismos no renales.

Aplicaciones clínicas

Las penicilinas constituyen los antibióticos más utilizados, en especial en las áreas siguientes.

La penicilina G es el fármaco de elección en la mayor parte de las infecciones causadas por estreptococos, neumococos, meningococos, espiroquetas, clostridios, bacilos aerobios grampositivos, estafilococos y gonococos no productores de penicilinasa y actinomicetos.

La penicilina G es inhibidora para el enterococo (*E. faecalis*), pero para obtener un efecto bactericida (p. ej., en la endocarditis enterocócica) se debe agregar un aminoglucósido. La penicilina G a dosis habituales se excreta en la orina a una concentración lo suficientemente elevada como para inhibir algunos microorganismos gramnegativos a menos que produzcan una gran cantidad de β lactamasas.

La penicilina G benzatínica es una sal muy poco soluble que se administra por vía intramuscular para conseguir una concentración reducida, pero prolongada del fármaco. Una sola inyección de 1.2 millones de unidades (0.7 g) es satisfactoria para el tratamiento de la faringitis por estreptococo del grupo A y la sífilis primaria. Esta misma inyección cada tres a cuatro semanas constituye una profilaxia satisfactoria contra la reinfección por estreptococo del grupo A en los pacientes con fiebre reumática.

La única indicación para utilizar alguna penicilina resistente a la penicilinasa, por ejemplo nafcilina u oxacilina, es la infección por estafilococos productores de β lactamasa. En el caso de las infecciones estafilocócicas más leves, se puede utilizar cloxacilina o dicloxacilina por vía oral. Los estafilococos resistentes a la oxacilina y la nafcilina tienen el gen *mecA* y elaboran una proteína de unión a la penicilina con una afinidad reducida, 2a.

La amoxicilina por vía oral se absorbe mejor que la ampicilina y la concentración que alcanza es más elevada. La amoxicilina combinada con ácido clavulánico es activa contra *H. influenzae* productor de β lactamasa. La ticarcilina es similar a la ampicilina, pero más activa contra los bacilos gramnegativos. En ocasiones, aquella se utiliza en la septicemia por gramnegativos junto con un aminoglucósido (p. ej., gentamicina), aunque tal combinación ha sido sustituida por un solo fármaco de amplio espectro, como los carbapenémicos, las quinolonas y las cefalosporinas de espectro expandido. La piperacilina combinada con el inhibidor de la β lactamasa, tazobactam, ha incrementado la actividad contra algunos bacilos gramnegativos productores de β lactamasa. No obstante, la combinación de piperacilina con tazobactam no es más activa contra *P. aeruginosa* que la piperacilina sola.

Efectos secundarios

Las penicilinas tienen menos efectos tóxicos directos que los demás antibióticos. Los más graves son causados por hipersensibilidad.

Todas las penicilinas tienen sensibilización cruzada y reacciones cruzadas. Cualquier material (incluida la leche y los cosméticos) que contenga penicilina puede inducir sensibilización. Los antígenos causales son productos de degradación (p. ej., ácido peniciloico) unidos a las proteínas del hospedador. Las pruebas cutáneas con peniciloil-polilisina, con productos alcalinos de la hidrólisis y con penicilina no degradada permiten identificar a muchas personas hipersensibles. Entre los individuos que tienen una reacción positiva a las pruebas cutáneas, la frecuencia de una reacción alérgica inmediata importante es elevada. Estas reacciones se relacionan con anticuerpos IgE unidos a la célula. Los anticuerpos IgG contra las penicilinas son frecuentes y no se vinculan con otras reacciones alérgicas fuera de algunos casos de anemia hemolítica. El antecedente de una reacción antigua a la penicilina no es confiable, pero en estas personas el fármaco se debe administrar con cautela o se debe sustituir por otro antibiótico.

R_1—C(=O)—NH— ... S ... —CH_2—R_2 ; O ; COOH

Núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico. Las estructuras siguientes pueden ser sustituidas en las terminaciones R_1 y R_2 para producir los derivados correspondientes.

FIGURA 28-2 Estructura básica de las cefalosporinas. R, cadena lateral. Es posible agregar diversas estructuras en los puntos R1 y R2 para crear los derivados de estos fármacos.

CUADRO 28-4 Principales grupos de cefalosporinas

Primera generación
Cefalotina[+]
Cefapirina[+]
Cefazolina
Cefalexina[a]
Cefradina[a+]
Cefadroxilo[a]
Segunda generación
Cefamandol[+]
Cefuroxima
Cefonicida[+]
Cefaclor[a+]
Cefoxitina[b]
Cefotetán[b]
Cefprozilo[a]
Cefuroxima acetilo[a]
Cefmetazol[b]
Loracarbef[+]
Tercera generación
Cefotaxima
Ceftizoxima[+]
Ceftriaxona
Ceftazidima
Cefoperazona[+]
Moxalactam[+]
Cefixima[a]
Cefpodoxima proxetilo[a]
Ceftibutén[a]
Cefdinir[a]
Cefditoren[a]
Cuarta generación
Cefepima
Cefpiroma[+]
MRSA activo
Ceftarolina
Ceftobiprol[+]

[+] No se distribuye en Estados Unidos.
[a] Fármacos orales.
[b] Son cefamicinas y tienen una mayor actividad contra anaerobios, pero por lo demás, su espectro es similar al de las cefalosporinas de la segunda generación.
Modificado con autorización de Craig WA, Andes DR, Cephalosporins. En Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, (eds) *Mandel, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8[th] ed, Elsevier, 2015, p 280. Copyright Elsevier.

Puede haber reacciones alérgicas en forma de choque anafiláctico típico, enfermedad del suero típica (urticaria, edema articular, edema angioneurótico, prurito, dificultad respiratoria durante los primeros siete a 12 días después de administrar penicilina) y diversos eritemas cutáneos, fiebre, nefritis, eosinofilia, vasculitis, etc. En los niños, la frecuencia de hipersensibilidad a la penicilina es mínima, pero alcanza entre 1 y 5% en los adultos de Estados Unidos. Las reacciones anafilácticas agudas que ponen en peligro la vida son muy raras (0.5%). Algunas veces los corticosteroides suprimen las manifestaciones alérgicas a las penicilinas.

Las dosis muy altas generan concentraciones irritantes para el SNC. En los pacientes con insuficiencia renal, las dosis menores generan en ocasiones encefalopatía, delirio y convulsiones. Con estas dosis incluso puede haber intoxicación directa por cationes (K^+). La nafcilina algunas veces causa granulocitopenia. Las penicilinas por vía oral originan

apter 28_Carroll_4R.indd 383 14/04/16

algunas veces diarrea. Las dosis elevadas de penicilina pueden ocasionar una tendencia hemorrágica. Algunas penicilinas ya son obsoletas por sus efectos adversos. La meticilina origina con frecuencia nefritis intersticial. La carbencilina a menudo reduce la agregación plaquetaria, lo cual provoca en ocasiones hemorragia abundante.

CEFALOSPORINAS

Algunos hongos del género *Cephalosporium* producen sustancias antimicrobianas llamadas cefalosporinas. Éstas son compuestos β lactámicos con un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico (figura 28-2) en lugar del ácido 6-aminopenicilánico de las penicilinas. Las cefalosporinas naturales poseen actividad antibacteriana reducida, pero la adición de varios grupos laterales R ha dado como resultado la proliferación de una gran cantidad de fármacos con diversas propiedades farmacológicas y espectros de actividades antimicrobianas. Las cefamicinas son similares a las cefalosporinas, pero se derivan de los actinomicetos.

El mecanismo de acción de las cefalosporinas es análogo al de las penicilinas: 1) se unen a PBP específicas que sirven como receptores del fármaco en la bacteria; 2) inhiben la síntesis de la pared celular al impedir la transpeptidación del peptidoglucano y 3) activan enzimas autolíticas en la pared celular que generan lesiones que a su vez provocan la muerte bacteriana. La resistencia a las cefalosporinas se atribuye a: 1) poca penetración del fármaco en la bacteria; 2) no contar con PBP respecto a un fármaco específico o alteración de dichas proteínas, lo que disminuye la afinidad por tal medicamento; 3) degradación del fármaco por acción de las β lactamasas, de las cuales existen muchas; y 4) mecanismos de expulsión de la célula. Algunas cefalosporinas de la segunda y tercera generaciones inducen β lactamasas especiales en bacterias gramnegativas. Sin embargo, en términos generales, las cefalosporinas tienden a ser resistentes a las β lactamasas producidas por estafilococos y bacterias gramnegativas comunes que hidrolizan e inactivan a muchas penicilinas.

Para una mejor referencia, se ha dispuesto a las cefalosporinas en grupos mayores o "generaciones" que se expondrán en los párrafos siguientes (cuadro 28-4). Muchas de ellas son excretadas predominantemente por el riñón y pueden acumularse e inducir efectos adversos en personas con insuficiencia renal.

Cefalosporinas de primera generación

Las cefalosporinas de primera generación son muy activas contra cocos grampositivos (excepto enterococos y MRSA) y muestran actividad moderada contra algunos bacilos gramnegativos, en particular *E. coli, Proteus* y *Klebsiella*. Los cocos anaerobios suelen ser sensibles, no así *Bacteroides fragilis*.

La cefalexina, el cefadroxil y la cefradina (que no se distribuye más en Estados Unidos) se absorben desde el intestino en grado variable y se utilizan para tratar infecciones no complicadas de vías urinarias y faringitis estreptocócica. Otras cefalosporinas de primera generación deben inyectarse para obtener concentraciones adecuadas en sangre y tejidos. La cefazolina es un fármaco de elección para profilaxia quirúrgica, porque con él se obtienen las máximas concentraciones (90 a 120 μg/ml) si se administra cada 8 h. La cefalotina, la cefapirina y la cefradina (los cuales ya no se distribuyen en Estados Unidos) en las mismas dosis, generan concentraciones menores. Ninguno de los fármacos de la primera generación penetra en el SNC, y por ello no constituyen fármacos de elección para cualquier infección.

Cefalosporinas de segunda generación

Las cefalosporinas de segunda generación forman un grupo heterogéneo. Son activas contra los microorganismos cubiertos por fármacos de primera generación pero tienen una cobertura extendida contra bacilos gramnegativos, incluidos *Klebsiella* y *Proteus,* pero no *P. aeruginosa*.

Algunas cefalosporinas orales de segunda generación (pero no todas) se utilizan para el tratamiento de la sinusitis y otitis por *H. influenzae,* incluidas las cepas productoras de β lactamasa.

La cefoxitina y el cefotetán se utilizan en infecciones anaerobias mixtas, como peritonitis o enfermedad inflamatoria pélvica. No obstante, está aumentando la resistencia a este fármaco en el grupo de *B. fragilis*.

Cefalosporinas de tercera generación

Las cefalosporinas de tercera generación tienen una actividad reducida contra los cocos grampositivos, con excepción de *S. pneumoniae*; los enterococos son resistentes por naturaleza a las cefalosporinas y a menudo generan superinfecciones durante el uso de éstas. La mayor parte de las cefalosporinas de tercera generación es activa contra los estafilococos, pero la ceftazidima tiene acción débil. Una de las principales desventajas de estos fármacos de tercera generación es su actividad reforzada contra los bacilos gramnegativos. Cuando las cefalosporinas de segunda generación tienden a fallar contra *P. aeruginosa*, la ceftazidima o la cefoperazona obtienen buenos resultados. Por consiguiente, los fármacos de tercera generación son de gran utilidad en el tratamiento de la bacteriemia hospitalaria por gramnegativos. La ceftazidima incluso salva la vida en la melioidosis grave (infección por *Burkholderia pseudomallei*).

Otra característica distintiva importante de las cefalosporinas de tercera generación (excepto la cefoperazona) es su posibilidad de llegar hasta el SNC y presentarse en el LCR con suficiente concentración como para tratar la meningitis por bacilos gramnegativos. La cefotaxima, la ceftriaxona o la ceftizoxima por vía intravenosa se utilizan para el tratamiento de la septicemia y la meningitis por bacterias gramnegativas.

Cefalosporinas de cuarta generación

La cefepima es la única cefalosporina de cuarta generación que se utiliza hoy día en Estados Unidos. Posee actividad reforzada contra especies de *Enterobacter* y *Citrobacter* que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación. La actividad de la cefepima es similar a la ceftazidima contra *P. aeruginosa*. Su actividad contra estreptococos y estafilococos susceptibles a la meticilina es mayor que la ceftazidima y similar a la de otros compuestos de tercera generación. La cefpiroma es una cefalosporina de cuarta generación disponible fuera de Estados Unidos.

En dicho país, recientemente se han aprobado varios fármacos nuevos. El cefditorén es una cefalosporina oral de tercera generación con excelente actividad contra numerosas cepas de grampositivos y gramnegativos. Este medicamento tiene acción bactericida y es estable contra muchas β lactamasas. El cefditorén es la cefalosporina oral más potente contra *S. pneumoniae*. Dos fármacos, la ceftarolina y el ceftobiprol, muestran actividad contra MRSA. La primera tiene mayor actividad contra grampositivos que incluyen MRSA, *E. faecalis* susceptible a ampicilina y neumococos no susceptibles a penicilina. Está indicada para tratar infecciones agudas de piel y estructuras cutáneas por bacterias, así como neumonía extrahospitalaria. Hay señalamientos aislados de los buenos resultados con su empleo en infecciones más graves como las de tipo bacteriano causadas por MRSA. El ceftobiprol muestra un espectro de actividad similar al de otras cefalosporinas, pero además es activo contra MRSA, *E. faecalis* susceptible a ampicilina y *S pneumoniae* resistente a penicilina. En la actualidad no se distribuye en Estados Unidos. Los últimos dos fármacos mencionados han sido conocidos como "cefalosporinas activas contra MRSA". No obstante, es importante destacar que no poseen actividad satisfactoria contra *P. aeruginosa*, especies de *Acinetobacter* o *Enterobacteriaceae* productoras de ESBL.

Ante el número cada vez mayor de β lactamasas, se han hecho combinaciones de cefalosporinas con inhibidores de tales enzimas. Las más promisorias hasta el momento incluyen ceftazidima y ceftarolina en combinación con avibactama, un nuevo inhibidor de β lactamasa. Las combinaciones mencionadas tienen un espectro de actividad similar al de los carbapenémicos. Una nueva cefalosporina con mayor actividad contra *P. aeruginosa*, el ceftolozano se ha combinado con tazobactama en investigaciones en seres humanos para tratar *Enterobacter* hiperproductora de AmpC y KPC. En Estados Unidos, la FDA ha aprobado el uso de las combinaciones de ceftazidima-avibactama y ceftolozano-tazobactama.

Efectos adversos de las cefalosporinas

Las cefalosporinas son fármacos sensibilizantes y desencadenan diversas reacciones de hipersensibilidad, que incluyen anafilaxia, fiebre, erupciones cutáneas, nefritis, granulocitopenia y anemia hemolítica. La frecuencia de alergias cruzadas entre ellas y las penicilinas es de 5%, aproximadamente. Las personas que tienen una alergia mínima a la penicilina toleran a menudo las cefalosporinas, pero no las toleran quienes tienen antecedentes de anafilaxia.

La tromboflebitis surge a veces después de inyección intravenosa. La hipoprotrombinemia es frecuente con las cefalosporinas y posee un grupo metiltiotetrazol (como cefamandol, cefmetazol, cefotetán, cefoperazona). La complicación mencionada se puede evitar con la administración oral de vitamina K (10 mg dos veces por semana). Los mismos fármacos también ocasionan reacciones intensas al disulfiram y por ello es importante no consumir bebidas alcohólicas.

Con frecuencia, surgen efectos adversos del tubo digestivo predominantemente diarrea. Se ha descrito seudolitiasis biliar reversible con la administración de dosis elevadas de ceftriaxona.

Puesto que muchas cefalosporinas de segunda, tercera y cuarta generaciones poseen una actividad reducida contra los microorganismos grampositivos, en especial enterococos, algunas veces se producen superinfecciones con estos microorganismos y con hongos.

OTROS β LACTÁMICOS

Monobactámicos

Los monobactámicos tienen un anillo β lactámico monocíclico y son resistentes a las β lactamasas; son activos contra bacilos gramnegativos de modo predominante cuando se unen a PBP3, pero no contra bacterias grampositivas ni anaerobios. El primero de estos fármacos fue el aztreonam, cuya acción es similar a la de los aminoglucósidos y se administra por vía intravenosa o intramuscular cada 8 o 12 h. Los pacientes con alergia a la penicilina mediada por IgE lo toleran sin demostrar reacciones y, fuera de algunos exantemas cutáneos y alteraciones menores de la aminotransferasa, no se han publicado efectos adversos importantes. Algunas veces se producen superinfecciones por estafilococos o enterococos.

Carbapenémicos

Estos fármacos son similares desde el punto de vista estructural a los antibióticos β lactámicos. El imipenem, el primer fármaco de este tipo, posee buena actividad contra numerosos bacilos gramnegativos, microorganismos grampositivos y anaerobios; es resistente a las β lactamasas, pero es inactivado por las dihidropeptidasas en los túbulos renales. Por consiguiente, se administra con un inhibidor de la peptidasa, la cilastatina.

El imipenem penetra muy bien en tejidos y líquidos del cuerpo, incluido el LCR. Este fármaco se administra por vía intravenosa cada 6 a 8 h y la dosis se reduce en caso de insuficiencia renal. El imipenem está indicado en las infecciones causadas por microorganismos que son resistentes a otros fármacos. Dicho antibiótico, en comparación con otros carbapenémicos, puede brindar mayor protección contra grampositivos. El meropenem y el doripenem también ofrecen una mayor protección contra los mismos microorganismos.

Algunos efectos adversos del imipenem son vómito, diarrea, exantemas cutáneos y reacciones en los sitios de administración. La concentración excesiva en los pacientes con insuficiencia renal provoca convulsiones. Los individuos alérgicos a las penicilinas a menudo lo son también al imipenem.

El meropenem es similar al imipenem en cuanto a sus características farmacológicas y espectro antimicrobiano. Sin embargo, no es inactivado por las dipeptidasas y es menos probable que provoque convulsiones que el imipenem.

El ertapenem tiene una semivida prolongada que permite administrarlo una vez al día. Es útil para el tratamiento de las infecciones complicadas que no son causadas por microorganismos patógenos hospitalarios. Su actividad contra especies de *Enterococcus*, *P. aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos que no fermentan glucosa es reducida.

El doripenem es el carbapenémico que ha sido aprobado en fecha reciente en Estados Unidos. El grupo sulfamoilamimoetil-pirrolidiniltio en su cadena lateral en la posición 2

fomenta su actividad contra los bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa. Se ha publicado que este fármaco tiene gran afinidad por las PBP específicas de especie. Por ejemplo, el doripenem posee afinidad por la PBP 3 en *P. aeruginosa*. Se ha publicado que el doripenem es más activo contra *P. aeruginosa* que el imipenem, pero muestra la misma acción que el meropenem. Ninguno de los carbapenémicos posee actividad contra *Stenotrophomonas maltophilia*.

TETRACICLINAS

Las tetraciclinas son un grupo de fármacos que difieren en cuanto a sus características físicas y farmacológicas, pero poseen casi las mismas propiedades antimicrobianas y ofrecen una resistencia cruzada completa. Las tetraciclinas se absorben del tubo digestivo y se distribuyen en los tejidos, pero penetran muy poco en el LCR (excepto doxiciclina). Algunas se aplican por vía intramuscular o intravenosa. Se excretan en heces, bilis y orina en diversas magnitudes. Con una dosis de clorhidrato de tetraciclina de 2 g/día por vía oral, su concentración sanguínea alcanza 8 μg/ml. La minociclina y la doxiciclina se eliminan con mayor lentitud y, por consiguiente, se proporcionan a intervalos más prolongados.

Las tetraciclinas poseen la estructura básica que se muestra a continuación.

	R	R_1	R_2	Depuración renal (ml/min)
Tetraciclina	—H	$-CH_3$	—H	65
Doxiciclina	—H	$-CH_3$	—OH	16
Minociclina	$-N(CH_3)_2$	—H	—H	< 10

Actividad antimicrobiana

Las tetraciclinas son concentradas por las bacterias sensibles e inhiben la síntesis de proteínas al impedir la unión de la aminoacil-tRNA con la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos. Las bacterias resistentes no concentran el fármaco. Esta resistencia es regulada por plásmidos transmisibles.

Las tetraciclinas constituyen los principales bacteriostáticos; Inhiben la proliferación de las bacterias grampositivas y gramnegativas sensibles (que son inhibidas por 0.1 a 10 μg/ml) y son los fármacos de elección en las infecciones causadas por rickettsias, *Anaplasma, Bartonella*, clamidias y *Mycoplasma pneumoniae*. Las tetraciclinas se utilizan en el cólera para acortar la excreción de vibrios. El clorhidrato de tetraciclina o la doxiciclina por vía oral durante siete días son eficaces contra la clamidiosis genital. Algunas veces se utilizan tetraciclinas combinadas con estreptomicina para el tratamiento de las infecciones por *Brucella, Yersinia* y *Francisella*. La minociclina suele ser activa contra *Nocardia* y permite erradicar el estado de portador de meningococo. En el acné, se administran dosis reducidas de tetraciclinas durante varios meses para suprimir las bacterias cutáneas y sus lipasas, las cuales fomentan los cambios inflamatorios.

Las tetraciclinas no inhiben a los hongos. Suprimen de modo temporal una parte de la microbiota intestinal normal y pueden ocurrir superinfecciones, en especial por *Pseudomonas,* estafilococos y levaduras resistentes a las tetraciclinas.

Efectos secundarios

Las tetraciclinas generan diversos grados de molestias digestivas (náusea, vómito, diarrea), exantemas cutáneos, lesiones mucosas y fiebre en muchos pacientes, en especial cuando la administración es prolongada y la dosis es elevada. También es frecuente fotosensibilidad que origina una erupción en zonas expuestas a rayos solares. Con frecuencia se observa sustitución de la microbiota bacteriana (véase antes). El crecimiento excesivo de levaduras en las mucosas anal o vaginal durante la administración de tetraciclinas, provoca inflamación y prurito. La proliferación excesiva de otros microorganismos en el intestino genera enterocolitis.

Las tetraciclinas se depositan en las estructuras óseas y los dientes, sobre todo en el feto y durante los primeros seis años de vida. Los hijos de las mujeres que utilizan tetraciclinas en periodos prolongados durante el embarazo manifiestan cambios de la coloración y la fluorescencia dental. En algunos, incluso se lesiona el hígado. En ocasiones, la minociclina origina alteraciones vestibulares pronunciadas.

Análisis bacteriológico

Los microorganismos que son sensibles a las tetraciclinas también lo son a la doxiciclina y a la minociclina. No obstante, la resistencia a las tetraciclinas no se puede utilizar para pronosticar resistencia a otros fármacos.

GLICILCICLINAS

Las glicilciclinas son análogos sintéticos de las tetraciclinas. Hoy día sólo se puede utilizar un fármaco, la tigeciclina. Esta última es un derivado 9-*tert*-butil-glicilamido de la minociclina. La tigeciclina comparte el mismo sitio de unión en el ribosoma que las tetraciclinas. Se adhiere con más avidez al ribosoma y esta unión firme probablemente es la razón de la acción reforzada contra los microorganismos resistentes a las tetraciclinas. La tigeciclina es activa contra un amplio espectro de microorganismos patógenos tanto grampositivos como gramnegativos. En comparación con las tetraciclinas, es más activa contra *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a la meticilina, *S. pneumoniae* sensible y resistente al fármaco y enterococos. En cuanto a los aerobios gramnegativos, además del espectro de otras tetraciclinas, la tigeciclina posee actividad reforzada contra diversas enterobacterias, incluidas especies de *Salmonella, Shigella* y *Acinetobacter.* No posee suficiente actividad contra *P. aeruginosa, S. maltophilia* o *Burkholderia cepacia.* Asimismo, la tigeciclina es activa contra numerosas bacterias anaerobias, incluido *B. fragilis.*

En la actualidad, la tigeciclina sólo se vende en presentación parenteral por su biodisponibilidad reducida. Este

fármaco se distribuye de manera rápida y extensa en los tejidos. Su unión a proteínas varía de 73 a 79%. La tigeciclina no se metaboliza hasta formar metabolitos con actividad farmacológica. Su semivida es prolongada, de aproximadamente 40 h. Se elimina sobre todo a través de las vías biliares y las heces fecales. Otra vía secundaria de eliminación es la depuración renal. Se ha aprobado en Estados Unidos la tigeciclina para tratar infecciones complicadas de piel, tejidos blandos, del interior del abdomen y neumonía extrahospitalaria. En 2013 la FDA publicó una llamada de atención y precaución en cuanto al mayor riesgo de muerte en sujetos que recibían dicho fármaco en comparación con otros antimicrobianos. Se sugirió reservarlo para situaciones en que no se disponía de otros fármacos o no se podían usar a causa de resistencia.

CLORANFENICOL

El cloranfenicol es una sustancia producida en un principio a partir de cultivos de *Streptomyces venezuelae,* pero hoy día se elabora de forma sintética.

El cloranfenicol cristalino es un compuesto estable que se absorbe rápidamente del tubo digestivo y se distribuye de manera extensa en los tejidos y los líquidos del cuerpo, incluidos el SNC y el LCR; penetra bien en las células. La mayor parte del fármaco se inactiva en el hígado al conjugarse con ácido glucurónico o al ser reducido para formar arilaminas inactivas. Se excreta principalmente en la orina, 90% en su forma inactiva. El cloranfenicol suele administrarse por vía oral, pero el succinato se puede inyectar por vía intravenosa a una dosis similar.

Cloranfenicol

El cloranfenicol es un inhibidor potente de la síntesis de proteínas en los microorganismos. Bloquea la fijación de los aminoácidos a la cadena peptídica naciente en la unidad 50S de los ribosomas al interferir con la acción de la peptidiltransferasa. El cloranfenicol es básicamente bacteriostático y su espectro, dosificación y concentración sanguínea son similares a los de las tetraciclinas. Se ha utilizado cloranfenicol para tratar diversos tipos de infecciones (p. ej., por salmonela, meningococo, *H. influenzae*) pero ya no constituye el fármaco de elección para ninguna infección.

La resistencia al cloranfenicol es consecutiva a la destrucción del fármaco por una enzima (cloranfenicol aciltransferasa) regulada por plásmidos.

Este fármaco rara vez provoca molestias digestivas. Sin embargo, la administración de más de 3 g/día de forma regular induce alteraciones en la maduración de los eritrocitos, elevación del hierro sérico y anemia. Estos cambios son reversibles al suspender el fármaco. En raras ocasiones, algunas personas tienen idiosincrasia aparente al cloranfenicol y manifiestan anemia aplásica pronunciada o letal que difiere del efecto reversible sujeto a la dosis descrita antes. Por estas razones, el uso de cloranfenicol suele limitarse a las infecciones en las cuales es claramente el fármaco más eficaz según los resultados de laboratorio o la experiencia del médico.

En los lactantes prematuros y recién nacidos, el cloranfenicol induce colapso ("síndrome gris") puesto que aún no se ha desarrollado el mecanismo normal de desintoxicación (conjugación con glucurónido en el hígado).

MACRÓLIDOS

La eritromicina se obtiene a partir de *Streptomyces erythreus* y su fórmula química es $C_{37}H_{67}NO_{13}$. Los fármacos afines a la eritromicina son claritromicina, azitromicina y otros. Los macrólidos se adhieren a un receptor (un rRNA 23S) en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. También inhiben la síntesis de proteínas al interferir con las reacciones de translocación y la formación de complejos de iniciación. La resistencia a las eritromicinas es consecutiva a una alteración (metilación) del receptor de rRNA. Este mecanismo es regulado por un plásmido transmisible. Otros mecanismos incluyen enzimas inactivadoras y de salida activa del fármaco codificada por los genes *mef* y *msr*. La actividad de las eritromicinas aumenta de modo notable en un pH alcalino.

Los macrólidos a una concentración de 0.1 a 2 μg/ml son activos contra las bacterias grampositivas, incluidos neumococos, estreptococos y corinebacterias. También son sensibles *M. pneumoniae, Chlamydia trachomatis, L. pneumophila* y *Campylobacter jejuni*. En las poblaciones de microorganismos sensibles se presentan variedades resistentes durante el tratamiento, principalmente en las infecciones estafilocócicas.

Las eritromicinas son los fármacos de elección en las infecciones causadas por los microorganismos antes mencionados y sustituyen a las penicilinas en las personas que son hipersensibles. El estearato, el succinato o el estolato de eritromicina por vía oral administrado cada 6 h alcanza una concentración sérica de 0.5 a 2 μg/ml. Las demás presentaciones se administran por vía intravenosa.

Algunos de sus efectos secundarios son fiebre, dispepsias leves y hepatitis colestásica como reacción de hipersensibilidad, en especial al estolato. Los efectos hepatotóxicos son más pronunciados durante el embarazo. Con el uso de eritromicina oral e intravenosa se han descrito arritmias cardiacas, específicamente taquicardia ventricular con prolongación del segmento QT. La administración conjunta de inhibidores de CYP3A intensifica gravemente el riesgo de tal situación. La eritromicina tiende a aumentar las concentraciones de fármacos que se administran de forma simultánea, como anticoagulantes, ciclosporina y otros más, al deprimir la actividad de enzimas microsómicas.

La claritromicina y la azitromicina son azálidos con similitud química a la eritromicina. De modo semejante a la eritromicina, tanto la claritromicina como la azitromicina son activas contra estafilococos y estreptococos. La claritromicina posee acción reforzada contra *L. pneumophila, Helicobacter pylori, Moraxella catarrhalis, C. trachomatis* y *Borrelia burgdorferi*. La azitromicina posee actividad reforzada contra *C. jejuni,*

apter 28_Carroll_4R.indd 387 14/04/16

H. influenzae, M. pneumoniae, M. catarrhalis, N. gonorrhoeae y *B. burgdorferi*. Ambos fármacos son activos contra el complejo *Mycobacterium avium* y además inhiben a la mayor parte de las cepas de *Mycobacterium chelonei* y *Mycobacterium fortuitum*. Las bacterias que son resistentes a la eritromicina también lo son a la claritromicina y la azitromicina. Las modificaciones químicas impiden el metabolismo de la claritromicina y la azitromicina que las inactiva y los fármacos se administran cada 12 h (claritromicina) o una sola vez al día (azitromicina). Ambos medicamentos tienen una frecuencia mucho menor de efectos secundarios en el tubo digestivo que la eritromicina.

Los cetólidos son derivados semisintéticos de la eritromicina. Son más activos que los macrólidos, especialmente contra algunas bacterias resistentes a los macrólidos y su farmacocinética es mejor. El fármaco que ha sido aprobado en Estados Unidos es la telitromicina. Se administra por vía oral para el tratamiento de las infecciones agudas de las vías respiratorias superiores e inferiores. Su mecanismo de acción y las características de sus efectos secundarios son similares a los de los macrólidos. Informes ocasionales de hepatotoxicidad intensa han frenado su empleo en Estados Unidos.

Anillo de macrólido
Desosamina
Cladinosa

Eritromicina (R = CH_3)

CLINDAMICINA Y LINCOMICINA

La lincomicina (derivada de *Streptomyces lincolnensis)* y la clindamicina (derivado en el que se sustituye un átomo de cloro) son similares a la eritromicina en cuanto a su modo de acción, espectro antibacteriano y sitio receptor en los ribosomas, pero difieren desde el punto de vista químico. La clindamicina es activa contra especies de *Bacteroides* y otros anaerobios, aunque se ha observado incremento de la resistencia en el grupo de *Bacteroides fragilis*.

Estos fármacos son estables en ácido y se administran por vía oral o intravenosa. Se distribuyen extensamente en los tejidos, con excepción del SNC. Se excretan principalmente a través de hígado, bilis y orina.

Quizá la indicación más importante de la clindamicina intravenosa es el tratamiento de las infecciones graves por anaerobios. Hay publicaciones sobre el tratamiento exitoso de ciertas infecciones estafilocócicas de hueso con lincomicina. La clindamicina se ha utilizado de manera extensa recientemente en el tratamiento de infecciones de la piel y las estructuras cutáneas por MRSA extrahospitalario. La lincomicina no se debe utilizar en caso de meningitis. La clindamicina es eficaz en la colitis que acompaña a la administración de antibióticos y es causada por *C. difficile*; sin embargo, la mayor parte de los antibióticos se ha acompañado de colitis por *C. difficile*.

GLUCOPÉPTIDOS, LIPOPÉPTIDOS Y LIPOGLUCOPÉPTIDOS

Vancomicina

La vancomicina es producida por *Streptomyces orientalis*. Se absorbe poco en el intestino.

La vancomicina es bactericida para los estafilococos, algunos clostridios y ciertos bacilos. Este fármaco inhibe las primeras fases de la síntesis de peptidoglucano en la pared celular. Las cepas resistentes no surgen con rapidez. La vancomicina se administra por vía intravenosa en el caso de infecciones estafilocócicas generalizadas graves, incluidas la endocarditis, en especial la resistente a nafcilina. Para la septicemia o la endocarditis enterocócicas, la vancomicina es efectiva cuando se combina con algún aminoglucósido. La vancomicina por vía oral está indicada en la colitis seudomembranosa por antibióticos.

El surgimiento de resistencia a la vancomicina entre los enterococos ha repercutido en el tratamiento de las infecciones enterocócicas resistentes a múltiples fármacos. Véase la sección sobre Consecuencias clínicas de la farmacorresistencia al principio de este capítulo y el capítulo 15.

En varios países, ya se aisló *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina *in vitro*, incluido Estados Unidos. Estos pacientes tienden a padecer enfermedades complejas que incluyen tratamiento prolongado con vancomicina. En ciertos casos, las infecciones en apariencia no respondieron al tratamiento con vancomicina.

Un fenómeno que ha causado preocupación internacional es la resistencia pronunciada de *S. aureus* a la vancomicina. El mecanismo es el mismo o similar al de la resistencia a la vancomicina mediada por transposomas en los enterococos (adquisición de genes *vanA* [capítulo 15]). Estas cepas aisladas se han obtenido de diversos pacientes y quizá se observen más en el futuro.

Sus efectos secundarios son tromboflebitis, exantemas cutáneos, sordera neurosensorial, leucopenia y quizá lesión renal cuando se combina con un aminoglucósido.

Teicoplanina

La estructura de la teicoplanina es similar a la de la vancomicina. Es activa contra estafilococos (incluidas las cepas resistentes a la meticilina), estreptococos, enterococos y muchas otras bacterias grampositivas. Los enterococos con resistencia VanA a la vancomicina también son resistentes a la teicoplanina, pero los enterococos con resistencia VanB a la vancomicina son sensibles a la teicoplanina. La semivida de este fármaco es prolongada y se administra una sola vez al día. Algunos de sus efectos adversos son irritación circunscrita en el sitio de la inyección, hipersensibilidad y la posibilidad de efectos ototóxicos y

apter 28_Carroll_4R.indd 388 14/04/16

nefrotóxicos. La teicoplanina se vende en Europa, pero no en Estados Unidos.

Daptomicina

La daptomicina es un lipopéptido cíclico natural producido por *Streptomyces roseosporus*. Desde el punto de vista estructural, tiene un anillo con 10 aminoácidos, un ácido decanoico de 10 carbonos unido a un L-triptófano terminal. Es bactericida al provocar despolarización de la membrana bacteriana de manera dependiente del calcio. Existe una modalidad parenteral que se administra una sola vez al día. Se une a las proteínas y se elimina a través del riñón como fármaco precursor. En los pacientes con una depuración de creatinina < 30 ml/min, es necesario ajustar la dosis.

Uno de los principales efectos adversos de la daptomicina es la miopatía reversible. Dicha reacción al parecer surge con mayor frecuencia si se utilizan dosis mayores (6 mg/kg/día) para combatir la bacteriemia por *S. aureus*. Se recomienda la medición semanal sistemática de la creatina fosfocinasa (CPK, *creatine phosphokinase*) e interrumpir el uso de dicho antibiótico si sus concentraciones llegan a ser cinco veces mayores de lo normal. En la actualidad se ha aprobado el uso de la daptomicina en Estados Unidos para tratar infecciones de piel y tejidos blandos causadas por cocos grampositivos susceptibles y resistentes, y contra la bacteriemia por *S. aureus*. Surge sinergia *in vitro* cuando se combina a dicho antibiótico con la gentamicina; está en fase de estudio el uso de la combinación con otros fármacos como rifampicina y antibióticos lactámicos β.

Televancina, dalbavancina y oritavancina

Algunos lipoglucopéptidos nuevos con sustituyentes hidrófobos tienen mecanismo doble de acción. La cadena lateral lipófila en este grupo de fármacos prolonga su semivida. Inhiben la transglucosilación de la síntesis de peptidoglucanos de la pared celular al formar un complejo con los residuos D-alanil-D-alanina y también despolarizan la membrana bacteriana. La telavancina, el primer fármaco de este grupo aprobado para seres humanos en Estados Unidos en casos de infecciones bacterianas agudas de piel y estructuras cutáneas y también para el tratamiento de neumonía nosocomial resistente por *S. aureus*, tiene una semivida prolongada de 7 a 9 h y penetra de manera satisfactoria los tejidos. Se excreta predominantemente a través de los riñones.

En fecha reciente, la FDA aprobó el uso de dalbavancina; su semivida es de 8.5 días, lo cual permite su administración una vez por semana. Sus indicaciones son semejantes a las de la telavancina. En el verano de 2014 se aprobó el uso de oritavancina.

En comparación con la vancomicina, los lipoglucopéptidos mencionados son más activos contra muy diversos tipos de grampositivos patógenos que incluyen MRSA, *S. aureus* con resistencia intermedia a vancomicina (VISA, *vancomycin–intermediate S. aureus*) y cepas de *S. aureus* resistente a vancomicina (VRSA, *vancomycin–resistant S. aureus*). Son activos contra algunos microorganismos grampositivos que son resistentes a la linezolida y la daptomicina. Entre las reacciones adversas están disgeusia, náusea, vómito y disfunción renal reversible.

ESTREPTOGRAMINAS

La quinupristina-dalfopristina es una estreptogramina inyectable que consta de una mezcla 30:70 de dos derivados semisintéticos de la pristinamicina (estreptogramina del grupo B) y dalfopristina (estreptogramina del grupo A). Ambos componentes actúan de manera sinérgica para inhibir un amplio espectro de bacterias grampositivas incluidos el estafilococo resistente a la meticilina, el enterococo resistente a la vancomicina y el neumococo resistente a la penicilina. La quinupristina-dalfopristina es activa contra algunos anaerobios y bacterias gramnegativas (p. ej., *N. gonorrhoeae, H. influenzae*) pero no contra *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* o cepas de *Acinetobacter.* Los VRE que son resistentes a la vancomicina también lo son a la quinupristina-dalfopristina, pero son raros. Las reacciones adversas importantes incluyen flebitis, artralgias y mialgias.

OXAZOLIDINONAS

Las oxazolidinonas constituyen una clase de antimicrobianos sintéticos identificados en 1987. El primer fármaco distribuido a nivel comercial fue la linezolida. Su espectro antimicrobiano es semejante al de los glucopéptidos. El mecanismo de acción de dicho fármaco se identifica de manera inmediata en la síntesis de proteína (interferencia de la traducción al inhibir la formación de *N*-formilmetionil-tRNA, que es el complejo de inicio en el ribosoma 30S. La biodisponibilidad de la linezolida es 100% mucho mayor que la de la vancomicina, porque muestra penetración excelente en las secreciones de vías respiratorias. También tiene difusión satisfactoria en el interior de los huesos, la grasa y la orina. La linezolida suele utilizarse para tratar la neumonía, la bacteriemia e infecciones de piel y tejidos blandos causados por estafilococos y enterococos resistentes a glucopéptidos. Su principal efecto adverso es la trombocitopenia reversible. En el verano de 2014 se aprobó el uso de tedizolida para tratar infecciones bacterianas agudas de la piel y sus estructuras, causadas por microorganismos grampositivos susceptibles. Dicho antibiótico se distribuye en presentación intravenosa u oral y se administra una vez al día. Su espectro de actividad es similar al de la linezolida, aunque pudieran ser susceptibles a tedizolida algunos cocos grampositivos resistentes a la linezolida. Las reacciones adversas principales se originan en el tubo digestivo e incluyen náusea, vómito y diarrea; también pueden surgir cefalea y mareos. La trombocitopenia puede ser menor que la que surge con linezolida.

BACITRACINA

La bacitracina es un polipéptido que se obtiene de una cepa (cepa Tracy) de *Bacillus subtilis*. Es estable y se absorbe poco del tubo digestivo. Su única aplicación es de tipo tópico en piel, heridas o mucosas.

La bacitracina es básicamente bactericida para las bacterias grampositivas, incluidos los estafilococos resistentes a la penicilina. Para su aplicación tópica, se utilizan concentraciones de 500 a 2 000 U/ml de solución o gramo de pomada. Cuando se combina con polimixina B o neomicina, la bacitracina es útil

para suprimir la microbiota bacteriana mixta en las lesiones superficiales.

La bacitracina es nefrotóxica y causa proteinuria, hematuria y retención de nitrógeno. Por esta razón, no se utiliza por vía sistémica. Se dice que la bacitracina no induce hipersensibilidad con facilidad.

POLIMIXINAS

Las polimixinas son polipéptidos catiónicos básicos que generan nefrotoxicidad y son neurotóxicos. También son bactericidas para muchos bacilos aerobios gramnegativos (incluidas *Pseudomonas* y *Serratia*) al adherirse a las membranas celulares con abundante fosfatidiletanolamina y destruir dos funciones de la membrana: transporte activo y barrera de permeabilidad. Hasta hace poco tiempo, por sus efectos adversos y distribución deficiente en los tejidos, las polimixinas se utilizaban principalmente de forma tópica y rara vez en infecciones sistémicas. La polimixina E (colistina) tiene una modalidad parenteral en forma de colistimetato de sodio y ha despertado gran interés además de que se ha utilizado más como opción para el tratamiento de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a múltiples fármacos y como tratamiento de último recurso en las infecciones por *Klebsiella* resistente a la carbapenemasa. La colistina es bactericida contra estos microorganismos gramnegativos. Si se utiliza con sensatez, sus efectos adversos son menores que los descritos antes.

AMINOGLUCÓSIDOS

Los aminoglucósidos forman un grupo de fármacos que comparten diversas características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas. Hoy día, el grupo comprende estreptomicina, neomicina, canamicina, amicacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina, netilmicina, arbecacina y dibecacina. Fuera de Estados Unidos es posible obtener sisomicina, arbecacina y dibecacina. Todos estos fármacos inhiben la síntesis proteínica de las bacterias al unirse a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano e inhibir su función. La resistencia se basa en: 1) deficiencia del receptor ribosómico (mutación o metilación del sitio de unión de rRNA 16S); 2) destrucción enzimática del fármaco (resistencia mediada por plásmido que es transmisible y tiene importancia clínica) o 3) falta de permeabilidad a la molécula del medicamento y también falta de transporte activo al interior de la célula, o de bombas activas de expulsión. Las bacterias anaerobias a menudo son resistentes a los aminoglucósidos puesto que el transporte a través de la membrana celular es un proceso que necesita energía y depende del oxígeno.

Los aminoglucósidos son más activos a un pH alcalino que a uno ácido. Son potencialmente ototóxicos y nefrotóxicos, si bien en diversos grados. Se acumulan en la insuficiencia renal, por lo que es necesario ajustar la dosis cuando existe retención de nitrógeno. Los aminoglucósidos se utilizan principalmente contra bacterias gramnegativas del tubo digestivo o cuando se sospecha septicemia. En el tratamiento de la bacteriemia o la endocarditis causadas por estreptococos, enterococos o algunas bacterias gramnegativas, el aminoglucósido se administra junto con una penicilina que facilite su penetración en la célula. Los aminoglucósidos se seleccionan según los patrones más recientes de sensibilidad en determinada región u hospital hasta que se consiguen los resultados de las pruebas de sensibilidad para una cepa específica. La utilidad clínica de los aminoglucósidos ha disminuido con el advenimiento de las cefalosporinas y las quinolonas, pero se siguen utilizando en combinaciones (p. ej., con cefalosporinas para las bacteriemias por gramnegativos resistentes a múltiples fármacos). Los aminoglucósidos con carga positiva son inhibidos en los hemocultivos por el polianetolsulfonato de sodio y otros detergentes polianiónicos. Ciertos aminoglucósidos (en especial, la estreptomicina) son de utilidad como antimicobacterianos.

Neomicina y canamicina

La canamicina está vinculada con la neomicina y tanto su actividad como su resistencia cruzada completa son similares. La paromomicina también se relaciona de forma sustancial y se utiliza en la amebosis. Estos fármacos son estables y se absorben poco del tubo digestivo y otras superficies. Ninguno se utiliza por vía sistémica por sus efectos ototóxicos y neurotóxicos. Antes de una intervención quirúrgica del colon, se administran dosis tanto de neomicina como de canamicina por vía oral para reducir la microbiota intestinal, a menudo combinadas con eritromicina. Por lo demás, estos fármacos se utilizan de manera exclusiva para aplicación tópica en superficies infectadas (piel y heridas).

Amicacina

La amicacina es un derivado semisintético de la canamicina. Es relativamente resistente a muchas de las enzimas que inactivan a la gentamicina y la tobramicina y, por lo tanto, se puede utilizar contra algunos microorganismos que son resistentes a estos fármacos. No obstante, la resistencia bacteriana por impermeabilidad a la amicacina está aumentando de modo gradual. Muchas bacterias gramnegativas del tubo digestivo son inhibidas por la amicacina a la concentración que se obtiene después de su inyección. En caso de una infección del SNC, es necesario usarla por medio de inyección intratecal o intraventricular.

Al igual que los aminoglucósidos, la amicacina es nefrotóxica y ototóxica (en especial para la porción auditiva del VIII par craneal). Su concentración se debe vigilar en los pacientes con insuficiencia renal.

Gentamicina

A una concentración de 0.5 a 5 μg/ml, la gentamicina es bactericida para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas, incluidas numerosas especies de *Proteus, Serratia* y *Pseudomonas*. La gentamicina es ineficaz contra estreptococos y *Bacteroides*.

La gentamicina se ha utilizado en infecciones graves por bacterias gramnegativas resistentes a otros fármacos. En ocasiones, las penicilinas precipitan a la gentamicina *in vitro* (por lo cual no se debe mezclar) pero *in vivo* facilitan la penetración del aminoglucósido en los estreptococos y los bacilos gramnegativos, con la sinergia bactericida resultante que es útil en la septicemia y la endocarditis.

La gentamicina es tóxica, en especial en presencia de una función renal deficiente. El sulfato de gentamicina al 0.1% se ha utilizado de forma tópica en cremas o soluciones para

quemaduras o lesiones cutáneas infectadas. Estas cremas tienden a seleccionar bacterias resistentes a la gentamicina y los pacientes que las reciben deben permanecer aislados.

Tobramicina

Este aminoglucósido es muy similar a la gentamicina y existe cierta resistencia cruzada entre ambas. Conviene realizar pruebas de sensibilidad separadas. La tobramicina tiene una actividad ligeramente mayor contra *P. aeruginosa* en comparación con la gentamicina. Se han usado presentaciones inhaladas de dicho fármaco para tratar infecciones crónicas por *Pseudomonas* en individuos con fibrosis quística.

Las propiedades farmacológicas de la tobramicina son casi idénticas a las de la gentamicina. La mayor parte del fármaco se excreta por filtración glomerular. En caso de insuficiencia renal, la dosis se debe reducir y vigilar su concentración sanguínea.

Similar a otros aminoglucósidos, la tobramicina es ototóxica pero quizá menos nefrotóxica que la gentamicina. No se debe administrar al mismo tiempo que otros fármacos con efectos adversos semejantes o con diuréticos, los cuales tienden a elevar la concentración hística del aminoglucósido.

Netilmicina

La netilmicina comparte muchas de las características de la gentamicina y la tobramicina, pero no es inactivada por algunas bacterias que son resistentes a otros fármacos.

La indicación principal para utilizar netilmicina son quizá las infecciones yatrógenas en los pacientes inmunodeprimidos y muy graves con un riesgo elevado de padecer septicemia por bacterias gramnegativas dentro de un hospital.

La netilmicina es un poco menos ototóxica y nefrotóxica que otros aminoglucósidos.

Estreptomicina

Ésta fue el primer aminoglucósido, ya que se descubrió en el decenio de 1940 como producto de *Streptomyces griseus*. Se estudió con gran detalle y se convirtió en el prototipo de esta clase de fármacos. Por esta razón, sus propiedades se enumeran a continuación, pero la resistencia extendida que ha surgido entre los microorganismos ha reducido de modo considerable su utilidad clínica.

Después de su inyección intramuscular, la estreptomicina se absorbe con rapidez y se distribuye en los tejidos con excepción del SNC. Solo 5% de la concentración extracelular de estreptomicina alcanza el interior de la célula. La estreptomicina absorbida es excretada por filtración glomerular hacia la orina. Después de su administración por vía oral, se absorbe poco del tubo digestivo; la mayor parte se excreta en las heces.

La estreptomicina es bactericida para los enterococos (p. ej., en la endocarditis) cuando se combina con una penicilina. En la tularemia y la peste, se puede usar con una tetraciclina. En la tuberculosis, se combina con otros antituberculosos (INH, rifampicina). No se debe utilizar de forma aislada para el tratamiento de ninguna infección.

La eficacia terapéutica de la estreptomicina está limitada por el surgimiento inmediato de mutantes resistentes. Todas las cepas microbianas producen mutantes cromosómicos resistentes a la estreptomicina con una frecuencia relativamente elevada. Los mutantes cromosómicos tienen una modificación en el receptor P 12 en la subunidad 30S del ribosoma. La resistencia regulada por plásmidos provoca la destrucción enzimática del fármaco. Los enterococos que son resistentes a una concentración elevada de estreptomicina (2 000 μg/ml) o gentamicina (500 μg/ml) son resistentes a las acciones sinérgicas de estos fármacos con la penicilina.

La hipersensibilidad a la estreptomicina se manifiesta por fiebre, eritemas cutáneos y otras manifestaciones alérgicas. Este fenómeno es más frecuente cuando el contacto con el fármaco ha sido prolongado, en los pacientes que reciben un régimen terapéutico a largo plazo (p. ej., para la tuberculosis) o en el personal que prepara y maneja el fármaco (aquellos que preparan soluciones deben usar guantes).

La estreptomicina es muy tóxica para la porción vestibular del VIII par y causa acúfenos, vértigo y ataxia, que a menudo son irreversibles. Es moderadamente nefrotóxica.

Espectinomicina

La espectinomicina es un aminociclitol (similar a los aminoglucósidos) para administración intramuscular. Se aplica una sola vez como tratamiento de la gonorrea por gonococos productores de lactamasa β o en personas con alergia a la penicilina. Tal vez entre 5 y 10% de los gonococos es resistente. Por lo general, se presenta dolor en el sitio de la inyección y puede haber náusea y fiebre. Sin embargo, no se manifiestan nefrotoxicidad ni ototoxicidad. En Estados Unidos ya no se distribuye dicho fármaco.

QUINOLONAS

Las quinolonas son análogos sintéticos del ácido nalidíxico. El mecanismo de acción de todas ellas comprende la inhibición de la síntesis de DNA bacteriano al bloquear la DNA girasa y la topoisomerasa IV.

Las primeras quinolonas (ácido nalidíxico, ácido oxolínico y cinoxacina) no alcanzaban una concentración antibacteriana sistémica suficiente después de su uso por vía oral y, por consiguiente, eran útiles sólo como antisépticos urinarios (véase más adelante). Los derivados fluorados (p. ej., ciprofloxacina, norfloxacina y otras; figura 28-3) poseen mayor actividad antibacteriana y pocos efectos adversos, además de que consiguen una concentración suficiente para fines clínicos en sangre y tejidos.

Actividad antimicrobiana

Las fluoroquinolonas inhiben muchos tipos de bacterias, si bien el espectro de actividad varía entre fármacos. Estos medicamentos son muy activos contra *Enterobacteriaceae*, incluidas aquellas que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, especies de *Haemophilus*, neisserias, clamidias y otras. Se necesita una cantidad mayor para inhibir a *Pseudomonas aeruginosa* y legionela. La actividad de las quinolonas contra los microorganismos patógenos grampositivos varía. Algunas son activas contra *S. pneumoniae* resistente a múltiples fármacos. Tal vez sean activas contra estafilococos susceptibles

Ácido nalidíxico

Norfloxacina

Ciprofloxacina

Ofloxacina/levofloxacina

Gatifloxacina

Moxifloxacina

FIGURA 28-3 Estructuras de algunas fluoroquinolonas.

a meticilina y *E. faecalis*. Por lo general, los enterococos que son resistentes a la vancomicina también poseen resistencia a las quinolonas. Las fluoroquinolonas más modernas han reforzado su actividad contra las bacterias anaerobias, lo cual permite utilizarlas en forma de monoterapia en el tratamiento de las infecciones mixtas por aerobios y anaerobios.

Asimismo, las fluoroquinolonas muestran actividad contra *M. tuberculosis, M. flortuitum, M. kansasii* y, en ocasiones, *M. chelonei*.

Durante el tratamiento con fluoroquinolonas, se ha observado la presencia de *Pseudomonas*, estafilococos y otros microorganismos patógenos que son resistentes. Se han descrito, como mínimo, dos grandes mecanismos de resistencia a las quinolonas. La resistencia cromosómica surge por mutación y comprende una alteración de la subunidad A o B de la enzima “destinataria”, la DNA girasa o las mutaciones de la topoisomerasa IV ParC o ParE. El cambio en la permeabilidad de la membrana exterior hace que disminuya la acumulación del fármaco dentro de la bacteria. Por último, se han descrito bombas de expulsión codificadas por plásmidos como QepA y OqxAB.

Absorción y excreción

Después de su administración por vía oral, las fluoroquinolonas representativas se absorben bien y se distribuyen en los líquidos corporales y tejidos en distintas magnitudes, pero no abundan en el SNC. Su semivida es variable (3 a 8 h), pero ésta se prolonga en la insuficiencia renal, según el fármaco utilizado.

Las fluoroquinolonas se excretan principalmente a través de la orina por el riñón, pero parte de la dosis se metaboliza en el hígado.

Aplicaciones clínicas

Las fluoroquinolonas por lo general son eficaces en las infecciones urinarias y muchas de ellas son de utilidad en la prostatitis. Ciertas fluoroquinolonas tienen eficacia en el tratamiento de las enfermedades de transmisión sexual causadas por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*, pero carecen de efectos sobre *T. pallidum*. Sin embargo, el desarrollo de resistencia impide utilizarlas como fármacos de primera elección contra la gonorrea. Estos fármacos también permiten contener las infecciones de las vías respiratorias inferiores por *H. influenzae* (si bien no son los fármacos de elección) y la enteritis por salmonela, shigela o *Campylobacter*. Las fluoroquinolonas pueden ser adecuadas para el tratamiento de infecciones bacterianas ginecológicas y de los tejidos blandos graves y para la osteomielitis por microorganismos gramnegativos. Aunque mejoran algunas exacerbaciones de la fibrosis quística por *Pseudomonas*, cerca de 33% de estos microorganismos mucoides es resistente. Las fluoroquinolonas se han utilizado cada vez más para tratar infecciones por micobacterias, que incluyen *M. tuberculosis* resistente a múltiples fármacos.

Efectos adversos

Los efectos adversos más notables son náusea, insomnio, cefaleas y mareos. En ocasiones surgen trastornos del tubo digestivo, alteraciones de las funciones del hígado, erupciones cutáneas e infecciones sobreañadidas, particularmente por enterococos y estafilococos. En cachorritos, la administración prolongada de las fluoroquinolonas ocasiona daño articular, y por esa razón, rara vez se administran a niños, aunque se usan, según sean necesarias, en quienes tienen fibrosis quística. En Estados Unidos la FDA publicó una precaución de seguridad que mencionaba el desarrollo de tendinitis en adultos, que, como consecuencia, culminaba en rotura de tendones, frecuentemente el tendón de Aquiles. Otras reacciones adversas graves incluyen prolongación del intervalo QTc. Se han señalado también alteraciones de la glucemia con los fármacos nuevos como el gatifloxacino, que obligaron a retirar tal producto del mercado en Estados Unidos. Se piensa que el uso extenso de las fluoroquinolonas es el origen del incremento global de la frecuencia de enterocolitis por *C. difficile*.

SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIM

Las sulfonamidas forman un grupo de compuestos con la fórmula básica que se mostró antes en este capítulo. Al sustituir diversos radicales R, se obtienen varios compuestos con distintas propiedades físicas, farmacológicas y antibacterianas. El

apter 28_Carroll_4R.indd 392 14/04/16

mecanismo básico de acción de todos estos compuestos es la inhibición competitiva de la utilización de PABA. La aplicación simultánea de sulfonamidas con trimetoprim inhibe los pasos metabólicos secuenciales y quizá tiene sinergia antibacteriana.

Las sulfonamidas son bacteriostáticas para algunas bacterias gramnegativas y grampositivas, clamidias, nocardias y protozoarios.

Las sulfonamidas "solubles" (p. ej., trisulfapirimidinas, sulfisoxazol) se absorben con facilidad del tubo digestivo después de su administración por vía oral y se distribuyen en todos los tejidos y los líquidos del cuerpo. La mayor parte de las sulfonamidas se excreta rápidamente en la orina. Otras (p. ej., sulfametoxipiridazina) se eliminan con letitud y, por lo tanto, tienden a ser tóxicas. Hoy día, las sulfonamidas son útiles sobre todo en el tratamiento de la nocardiosis y los primeros ataques de infecciones urinarias por bacterias coliformes. Por el contrario, numerosos meningococos, shigelas, estreptococos del grupo A y microorganismos que causan infecciones urinarias ahora son resistentes. En las infecciones urinarias, shigelosis, salmonelosis, infecciones por otras bacterias gramnegativas y neumonía por *Pneumocystis* hoy día se utiliza una mezcla de cinco partes de sulfametoxazol con una parte de trimetoprim.

El trimetoprim aislado también es un tratamiento eficaz contra las infecciones urinarias no complicadas.

Resistencia

Los microorganismos que no utilizan PABA extracelular pero que, al igual que las células de mamífero, pueden utilizar ácido fólico preformado son resistentes a las sulfonamidas. En algunos mutantes resistentes a la sulfonamida, la ácido tetrahidropteroico sintetasa tiene una afinidad mucho mayor por PABA que las sulfonamidas. Lo opuesto ocurre con los microorganismos sensibles a la sulfonamida.

Efectos secundarios

Las sulfonamidas solubles tienen efectos adversos que pertenecen a dos categorías: alergia y efectos adversos. Muchas personas manifiestan hipersensibilidad a las sulfonamidas después de su primer contacto con estos fármacos y, al tener contacto de nuevo, manifiestan fiebre, urticaria, eritemas cutáneos y trastornos vasculares crónicos como poliarteritis nudosa. Los efectos adversos se manifiestan por fiebre, eritemas cutáneos, dispepsias, depresión medular que genera anemia o agranulocitosis, anemia hemolítica y anomalías de las funciones hepática y renal. Los efectos adversos son más frecuentes en los pacientes con sida.

OTROS FÁRMACOS CON APLICACIONES ESPECIALIZADAS

Trimetrexato

El trimetrexato es un análogo del ácido folínico cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la dihidrofolato reductasa. La aplicación principal del trimetrexato es el tratamiento de las infecciones por *P. jiroveci* en los pacientes con sida que no toleran o son resistentes al trimetoprim-sulfametoxazol y el isetionato de pentamidina. Puesto que el trimetrexato es lipófilo, se difunde de manera pasiva a través de las membranas celulares del hospedador acompañado de varios efectos adversos, principalmente supresión medular. Por consiguiente, se debe administrar con leucovorín cálcico, una coenzima reducida de folato, que es transportada hacia las células hospedadoras y las protege, pero no de *P. jiroveci*.

Dapsona

La dapsona es una sulfona muy similar a las sulfonamidas. Durante el tratamiento inicial de la lepra, a menudo se utiliza una combinación de dapsona y rifampicina. La dapsona también se usa para el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis* en los pacientes con sida. La dapsona se absorbe bien del aparato digestivo y se distribuye extensamente en los tejidos. Sus efectos adversos son frecuentes y comprenden anemia hemolítica, intolerancia digestiva, fiebre, prurito y eritemas.

$H_2N-C_6H_4-S(=O)_2-C_6H_4-NH_2$

Dapsona

Metronidazol

El metronidazol es un antiprotozoario utilizado en el tratamiento de las infecciones por tricomonas, *Giardia* y amebas. También ocasiona efectos importantes en las infecciones originadas por bacterias anaerobias, como las causadas por especies de *Bacteroides* y en la vaginosis bacteriana. Asimismo es eficaz en la preparación para la intervención quirúrgica del colon y en la diarrea por antibióticos causada por *C. difficile* toxígeno. Sus efectos adversos comprenden estomatitis, diarrea y náusea.

Antisépticos urinarios

Estos son fármacos con efectos antibacterianos limitados a la orina. No alcanzan una concentración suficiente en los tejidos y, por lo tanto, carecen de acciones sobre las infecciones sistémicas. No obstante, reducen de manera efectiva el recuento de bacterias en la orina y los síntomas de las infecciones urinarias. Se utilizan de forma exclusiva en el tratamiento de las infecciones urinarias.

Los siguientes son antisépticos urinarios utilizados con frecuencia: nitrofurantoína, fosfomicina, ácido nalidíxico, mandelato de metenamina e hipurato de metenamina. La nitrofurantoína es activa contra muchas bacterias, pero en ocasiones provoca molestias digestivas. La fosfomicina es un derivado del ácido fosfónico que en Estados Unidos se utiliza en una sola dosis como tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli* y otras *Enterobacteriaceae* y enterococos. El ácido nalidíxico, una quinolona, es eficaz únicamente en la orina, pero se forman bacterias resistentes con rapidez. Tanto el mandelato como el hipurato de metenamina acidifican la orina y liberan formaldehído. Otras sustancias que acidifican la orina (p. ej., metionina, jugo de arándano) son bacteriostáticos urinarios.

apter 28_Carroll_4R.indd 393 14/04/16

En las infecciones urinarias agudas, por lo general se prefieren los fármacos orales que se absorben de forma sistémica y se excretan en concentraciones elevadas en la orina. Éstos comprenden ampicilina, amoxicilina, sulfonamidas, quinolonas y otras.

FÁRMACOS UTILIZADOS PRINCIPALMENTE PARA EL TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES MICOBACTERIANAS

Isoniazida

La INH tiene efectos mínimos en la mayor parte de las bacterias, pero es muy activa contra las micobacterias, en especial contra *M. tuberculosis*. La INH inhibe y aniquila *in vitro*, a dosis de 0.1 a 1 μg/ml, a casi todos los bacilos tuberculosos, pero las poblaciones grandes de estos bacilos casi siempre contienen microorganismos resistentes a la INH. Por esta razón, el fármaco se combina con otros antimicobacterianos (en especial, etambutol o rifampicina) para reducir el surgimiento de bacilos tuberculosos resistentes. La INH actúa sobre las micobacterias inhibiendo la síntesis de ácidos micólicos y también al inhibir la enzima catalasa-peroxidasa. La INH y la piridoxina son análogos estructurales. Los pacientes que reciben INH excretan cantidades excesivas de piridoxina, lo cual genera neuritis periférica. Esta complicación se previene si se administra piridoxina, que no interfiere con la acción antituberculosa de la isoniazida.

La INH se absorbe de manera rápida y completa del tubo digestivo, donde una parte es acetilada y la otra se elimina en la orina. Con las dosis habituales, son raras las reacciones adversas, como efectos hepatotóxicos. La INH se difunde libremente en líquidos y tejidos, incluido el LCR.

Isoniazida

Piridoxina

Si el resultado negativo de la prueba de la tuberculina se torna positivo, la INH se puede utilizar como profilaxia.

Etambutol

El etambutol es un isómero D sintético termoestable e hidrosoluble de la estructura que se muestra a continuación:

$$H-C(CH_2OH)(C_2H_5)-NH-(CH_2)_2-HN-C(C_2H_5)(CH_2OH)-H$$

Etambutol

El etambutol, a dosis de 1 a 5 μg/ml, inhibe *in vitro* a muchas especies de *M. tuberculosis* y de micobacterias "atípicas".

El etambutol se absorbe bien del intestino. Aproximadamente 20% del fármaco se excreta en las heces fecales y 50% en la orina sin cambiar. Su excreción se retrasa en caso de insuficiencia renal. En la meningitis, el etambutol se presenta en el LCR.

Entre las micobacterias, la resistencia al etambutol surge con rapidez cuando se utiliza de forma aislada. Por consiguiente, se debe combinar con otro antituberculoso.

Por lo regular, el etambutol se administra en forma de dosis única por vía oral. La hipersensibilidad a este fármaco se presenta en pocas ocasiones. Sus efectos adversos más frecuentes son alteraciones visuales, pero son raras a las dosis tradicionales: menor agudeza visual, neuritis óptica y quizá lesión retiniana en algunos pacientes que reciben dosis elevadas durante varios meses. La mayor parte de tales cambios al parecer sufre regresión al suspender el etambutol. No obstante, durante el tratamiento es necesario realizar pruebas periódicas de la agudeza visual. Si se utiliza una dosis baja, los trastornos visuales son muy infrecuentes.

Rifamicinas

La rifampicina es un derivado semisintético de la rifamicina, antibiótico producido por *Streptomyces mediterranei*. Es activo *in vitro* contra algunos cocos grampositivos y gramnegativos, ciertas bacterias del tubo digestivo, micobacterias, clamidias y poxvirus. A pesar de que con menos de 1 μg/ml los meningococos y las micobacterias se inhiben, en casi todas las poblaciones de microorganismos se presentan mutantes altamente resistentes con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-5}. La administración prolongada de rifampicina en forma aislada permite el surgimiento de estos mutantes sumamente resistentes. No hay resistencia cruzada con otros antibióticos.

La rifampicina se fija con fuerza a la RNA polimerasa dependiente del DNA y, por consiguiente, inhibe la síntesis bacteriana de RNA. Bloquea una de las últimas fases en el ensamble de los poxvirus. Penetra bastante bien en los fagocitos y aniquila a los microorganismos intracelulares. Los mutantes resistentes a la rifampicina muestran una RNA polimerasa modificada.

La rifampicina se absorbe bien tras su ingestión, se distribuye ampliamente en los tejidos y se elimina principalmente a través del hígado y, en menor grado, en la orina.

En la tuberculosis, se administra una sola dosis por vía oral combinada con etambutol, INH o algún otro antituberculoso para retrasar el surgimiento de micobacterias resistentes a la rifampicina. Un régimen similar posiblemente sea válido contra las micobacterias no tuberculosas. En los tratamientos de corto plazo para tuberculosis, la rifampicina se administra por vía oral, al principio a diario (con INH) y luego dos o tres veces por semana durante seis a nueve meses. No obstante, es importante tomar por lo menos dos dosis por semana para

apter 28_Carroll_4R.indd 394 14/04/16

evitar el "síndrome similar a gripe" y la anemia. La rifampicina combinada con una sulfona es efectiva en la lepra.

La rifampicina por vía oral elimina la mayor parte de los meningococos en los portadores. Por desgracia, este proceso selecciona algunas cepas de meningococo que son altamente resistentes. Las personas que tienen contacto cercano con niños con infecciones por *H. influenzae* (p. ej., en la familia o en la guardería) pueden recibir rifampicina como profilaxia. En las infecciones urinarias y la bronquitis crónica, la rifampicina carece de utilidad por el surgimiento inmediato de resistencia.

La rifampicina confiere un color naranja inocuo a la orina, el sudor y las lentes de contacto. Algunos de sus efectos adversos ocasionales son exantemas, trombocitopenia, proteinuria de cadena ligera y deterioro de la función hepática. La rifampicina induce enzimas microsómicas (p. ej., citocromo P450).

La **rifabutina** es un antibiótico similar, activo en la prevención de la infección por el complejo de *M. avium*.

La **rifaximina** es un derivado de la rifampicina que posee un anillo adicional de piridoimidazol. No se absorbe por vía oral y es de utilidad en el tratamiento de la diarrea del turista y como tratamiento de refuerzo en la infección por *C. difficile*.

La **rifapentina** se utiliza para tratar la tuberculosis, y dado que su acción es más larga, es útil en tratamientos en que se administra una o dos veces por semana. Los alimentos mejoran la absorción de dicho fármaco.

Pirazinamida

La pirazinamida es similar a la nicotinamida. Se absorbe con facilidad del aparato digestivo y se distribuye de manera extensa en los tejidos. *M. tuberculosis* crea resistencia rápidamente a la pirazinamida, pero no tiene resistencia cruzada con la INH ni otros antituberculosos. Sus principales efectos adversos son secuelas hepatotóxicas (1 a 5%), náusea, vómito, hipersensibilidad e hiperuricemia.

Pirazinamida (PZA)

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿El antibiótico que corresponde a esta fórmula química es el fármaco de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cuál de los microorganismos siguientes?

   (A) *Bacteroides fragilis*
   (B) *Pseudomonas aeruginosa*
   (C) Virus de herpes simple
   (D) *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A)
   (E) *Mycobacterium tuberculosis*

2. La resistencia de *Staphylococcus aureus* al fármaco que se muestra en la pregunta 1 es causada por:
   (A) La acción de la acetiltransferasa
   (B) La acción de la β lactamasa
   (C) La sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala por el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
   (D) La permeabilidad reducida de la pared bacteriana celular al fármaco
   (E) El hecho de que *Staphylococcus aureus* es un microorganismo patógeno intracelular

3. La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* al fármaco que se muestra en la pregunta 1 es causada por:
   (A) La acción de la acetiltransferasa
   (B) La acción de la β lactamasa
   (C) La sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala por el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
   (D) La permeabilidad reducida de la pared bacteriana celular al fármaco
   (E) Las proteínas de unión modificadas desde el punto de vista genético en la pared celular bacteriana

4. Las aseveraciones siguientes sobre la resistencia de los enterococos a los antibióticos son correctas *excepto*:
   (A) Los enterococos son resistentes al trimetoprim-sulfametoxazol *in vivo*
   (B) Las cefalosporinas son inactivas contra los enterococos
   (C) Ha surgido resistencia a las estreptograminas (quinupristina-dalfopristina)
   (D) En Europa y Estados Unidos, son raros los enterococos resistentes a la vancomicina
   (E) Los enterococos resistentes a la vancomicina que una vez fueron clonales de manera constante y ahora lo son, pero de forma heterogénea

5. Una mujer asiática de 20 años de edad inmigrante reciente a Estados Unidos presenta fiebre y tos productiva con esputo hemático. Ha disminuido 6 kg de peso en las últimas seis semanas. Su radiografía de tórax deja ver infiltrados en los lóbulos superiores con cavidades. Según sus antecedentes y la radiografía, ¿cuál de los esquemas farmacológicos sería el mejor como tratamiento inicial mientras se esperan los resultados del cultivo?
   (A) Isoniazida, rifamipicina, pirazinamida y etambutol
   (B) Penicilina G y rifampicina
   (C) Cefotaxima, clindamicina y trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Ampicilina-sulbactam
   (E) Vancomicina, gentamicina y clindamicina

6. De las siguientes reacciones adversas, ¿cuáles suelen ser causadas por los aminoglucósidos?
   (A) Anemia aplástica
   (B) Estímulo inespecífico de linfocitos B
   (C) Efectos ototóxicos y nefrotóxicos
   (D) Fotosensibilidad

7. De los grupos siguientes de antibióticos, ¿cuál actúa en los microorganismos al inhibir la síntesis de proteínas?
   (A) Fluoroquinolonas
   (B) Aminoglucósidos
   (C) Penicilinas
   (D) Glucopéptidos (p. ej., vancomicina)
   (E) Polimixinas

8. Se conocen numerosas combinaciones de resistencia bacteriana-antibiótica. ¿Cuál de las siguientes es preocupante desde el punto de vista internacional?
   (A) Resistencia a las sulfonamidas en *Neisseria meningitidis*
   (B) Resistencia a la penicilina G en *Neisseria gonorrhoeae*

(C) Resistencia a la ampicilina en *Haemophilus influenzae*
(D) Resistencia a la eritromicina en *Streptococcus pyogenes* (estreptococo de grupo A)
(E) Resistencia a la vancomicina en *Staphylococcus aureus*

9. ¿Cuál de los factores siguientes no suele tomarse en consideración cuando se selecciona el tratamiento antimicrobiano inicial para una infección?
(A) Edad del paciente
(B) Ubicación anatómica de la infección (p. ej., meningitis o infección urinaria)
(C) Si el paciente padece o no inmunodepresión
(D) Si el sujeto tiene algún implante (p. ej., prótesis de cadera, prótesis valvular cardiaca, sonda vesical)
(E) Esperar al resultado del cultivo y las pruebas de sensibilidad

10. Los fármacos siguientes poseen buena actividad contra los microorganismos grampositivos, *excepto*:
(A) Daptomicina
(B) Vancomicina
(C) Aztreonam
(D) Quinupristina-dalfopristina
(E) Tigeciclina

11. La tigeciclina, una nueva glicilciclina activa contra diversos microorganismos patógenos, se utiliza principalmente en el tratamiento de las infecciones siguientes:
(A) Meningitis
(B) Infecciones intraabdominales por bacterias aerobias y anaerobias mixtas
(C) Septicemia neonatal
(D) Uretritis por *Chlamydia trachomatis*
(E) Como monoterapia para la bacteriemia por *Acinetobacter baumanii*

12. ¿Cuál de los carbapenémicos siguientes carece de actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*?
(A) Imipenem
(B) Meropenem
(C) Doripenem
(D) Ertapenem

13. ¿Cuál de los fármacos siguientes no demuestra un efecto posantibiótico contra los bacilos gramnegativos?
(A) Imipenem
(B) Ciprofloxacina
(C) Gentamicina
(D) Ampicilina

14. Los siguientes son mecanismos frecuentes de resistencia a las penicilinas, *excepto*:
(A) Producción de β lactamasas
(B) Modificaciones en los receptores de acción (las PBP)
(C) Incapacidad para activar a las enzimas autolíticas
(D) Fracaso para sintetizar peptidoglucanos
(E) Metilación del RNA ribosómico

15. La primera elección para el tratamiento de las infecciones graves por *Bacteroides fragilis* es:
(A) Clindamicina
(B) Ampicilina
(C) Cefoxitina
(D) Metronidazol
(E) Amoxicilina-clavulanato

Respuestas

1. D	6. C	11. B
2. B	7. B	12. D
3. E	8. E	13. D
4. D	9. E	14. E
5. A	10. C	15. D

BIBLIOGRAFÍA

Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM, *et al.* Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health Syst Pharm* 2013;70:195-283.

Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM: Metallo-β-lactamases: a last frontier for β-lactams? *Lancet Infect Dis* 2011;11:381-393.

Lundstrom TS, Sobel JD: Antibiotics for gram-positive bacterial infections: vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18:651.

Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ: Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—a new glycylcycline antimicrobial agent. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:165-171.

O'Donnell JA, Gelone SP: The newer fluoroquinolones. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18:691.

Opal SM, Pop-Vicas A: Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015, pp. 235-251.

Pillai SK, Eliopoulis GM, Moellering RC: Principles of anti-infective therapy. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 8a. ed. Elsevier, 2015.

Rice LB, Bonomo RA: Mechanisms of resistance to antibacterial agents. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Richter SS, Heilmann KP, Dohrn CL, *et al.*: Changing epidemiology of antimicrobial resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 2004-2005. *Clin Infect Dis* 2009;48:e23.

Two new drugs for skin and skin structure infection. Medical Letter 2014; 56:73-76.

Yao JDC, Moellering RC. Antibacterial agents. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

SECCIÓN IV VIROLOGÍA

CAPÍTULO 29

Propiedades generales de los virus

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (su tamaño va de casi 20 a 300 nm de diámetro) y contienen un solo tipo de ácido nucleico (RNA o DNA) en su genoma. El ácido nucleico se encuentra rodeado por una cubierta proteínica; está envuelto por una membrana constituida por lípidos. La unidad infecciosa en conjunto se denomina *virión*. Los virus son parásitos a nivel genético y muestran replicación sólo en células vivas, pues son inertes en el entorno extracelular. El ácido nucleico del virus contiene la información necesaria para hacer que las células infectadas del hospedador sinteticen macromoléculas con especificidad por los virus, necesarias para la generación de los descendientes de tales partículas. Durante este ciclo de replicación, se producen numerosas copias de ácidos nucleicos virales y de proteínas de las cubiertas. Estas últimas se ensamblan para formar una cápside, que rodea y estabiliza el ácido nucleico viral y lo protege del entorno extracelular y facilita la adhesión y la penetración del virus en cuanto establece contacto con una nueva célula susceptible. La infección viral puede tener poco o ningún efecto en la célula hospedadora o es posible que cause daño o la muerte.

El espectro de los virus tiene una gran diversidad. Éstos varían en gran medida en cuanto a estructura, organización y expresión genómicas, así como en las estrategias de replicación y transmisión. El margen de hospedaje para un virus determinado puede ser muy amplio o en extremo limitado. Es conocido que los virus infectan microorganismos unicelulares como micoplasmas, bacterias y algas tanto como a plantas y animales superiores. Los efectos generales de las infecciones virales sobre el organismo infectado se revisan en el capítulo 30.

Gran parte de la información acerca de las relaciones entre virus y hospedador se ha obtenido de estudios realizados en bacteriófagos, los virus que atacan a las bacterias. Este tema se revisa en el capítulo 7. Las propiedades de cada tipo de virus en particular se revisan en los capítulos 31 a 44.

TÉRMINOS Y DEFINICIONES EN VIROLOGÍA

En la figura 29-1, se muestran esquemas de virus con simetría icosaédrica y helicoidal. Los componentes virales indicados se describen a continuación.

Cápside: cubierta proteínica que rodea al ácido nucleico del genoma.

Capsómeros: unidades morfológicas que se observan por microscopia electrónica en la superficie de partículas virales icosaédricas. Los capsómeros se conforman por grupos de polipéptidos, aunque las unidades morfológicas no corresponden necesariamente con unidades estructurales definidas desde el punto de vista químico.

Virus defectuosos: una partícula viral que es deficiente desde el punto de vista funcional en algunos aspectos de la replicación.

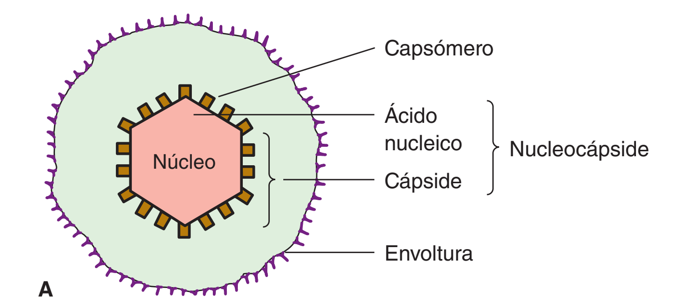
Envoltura (cubierta): una membrana con lípidos que rodea algunas partículas virales. Se adquiere durante la maduración viral por un proceso de gemación a través de la membrana celular (figura 29-3). Las glucoproteínas codificadas por el virus se exponen en la superficie de la envoltura. Estas proyecciones se denominan **peplómeros**.

Nucleocápside: complejo de proteínas y ácido nucleico que representa la forma empacada del genoma viral. El término se utiliza a menudo en casos en los cuales la nucleocápside es una subestructura de una partícula viral más compleja.

Unidades estructurales: unidades proteínicas básicas de los bloques de construcción de la cubierta. Por lo común son un conjunto de más de una subunidad proteínica no idéntica. La unidad estructural a menudo se conoce como **protómero**.

Subunidad: una sola cadena polipeptídica viral plegada.

Virión: partícula viral completa. En algunos casos (p. ej., virus del papiloma, picornavirus), el virión es idéntico a la nucleocápside. En viriones más complejos (virus del herpes,



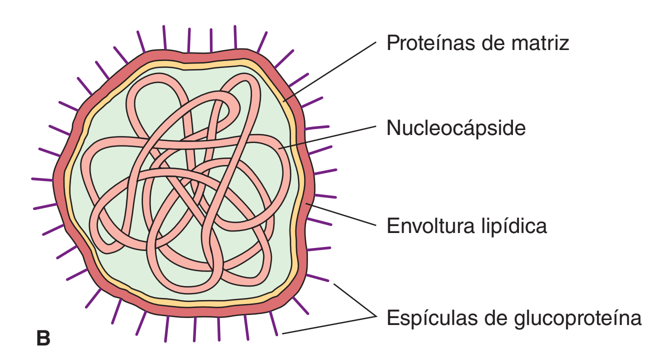


FIGURA 29-1 Esquema que ilustra los componentes de la partícula viral completa (virión). **A:** Virus envuelto con simetría icosaédrica. No todos los virus icosahédricos tienen cubiertas. **B:** Virus con simetría helicoidal.

ortomixovirus), incluye la nucleocápside además de la cubierta circundante. Esta estructura, el virión, sirve para transferir ácido nucleico viral de una célula a otra.

ORÍGENES EVOLUTIVOS DE LOS VIRUS

Se desconoce el origen de los virus. Existen notables diferencias entre los DNA virus y RNA virus y aquellos virus que utilizan tanto DNA como RNA en su material genético durante diferentes etapas de su ciclo vital. Es posible que tipos diferentes de agentes sean de diferentes orígenes. Las dos teorías sobre el origen de los virus pueden resumirse de la siguiente manera:

1. Los virus pueden derivarse de componentes de ácidos nucleicos de DNA o RNA de células hospedadoras que adquieren la capacidad de replicarse de manera autónoma y evolucionan de forma independiente. Son similares a genes que han adquirido la capacidad de existir independientes de la célula. Algunas secuencias virales están relacionadas con porciones de genes celulares que codifican dominios proteínicos funcionales. Parecería que al menos algunos virus han evolucionado por esta vía.
2. Los virus pueden ser formas degeneradas de parásitos intracelulares. No existen pruebas de que los virus evolucionaran a partir de bacterias, aunque otros microorganismos estrictamente intracelulares (como rickettsias y clamidias) tal vez lo hicieron. Sin embargo, los poxvirus son tan grandes y complejos que pueden representar productos de la evolución de algunos ancestros celulares.

CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Bases de la clasificación

Las siguientes propiedades se han utilizado como base para la clasificación de los virus. La cantidad de información disponible en cada categoría no es la misma para todos los virus. La secuenciación del genoma es una técnica que se realiza con frecuencia en etapa precoz de la identificación del virus, y las comparaciones con las bases de datos permiten obtener información detallada de la clasificación de las partículas, composición anticipada de proteínas y parentesco o similitud taxonómicos con otros virus.

1. Morfología del virión, lo que incluye tamaño, forma, tipo de simetría, presencia o ausencia de peplómeros y presencia o ausencia de membranas.
2. Propiedades del genoma viral, que incluye tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), tamaño del genoma, número de cadenas (sencilla o doble), lineal o circular, sentido (positivo, negativo, en ambos sentidos), segmentos (número, tamaño), secuencia de nucleótidos, contenido de GC y presencia de características especiales (elementos repetitivos, isomerización, cubierta de terminal 5′, proteínas con unión covalente al extremo 5′ terminal, trayecto poli-A 3′-terminal).
3. Organización del genoma y replicación, que incluye orden de los genes, número y posición de los marcos de lectura abiertos, estrategias de replicación (patrones de transcripción, traducción) y sitios celulares (acumulación de proteínas, ensamble de viriones, liberación de viriones).
4. Propiedades de las proteínas virales, lo que incluye el número, tamaño, secuencia de aminoácidos, modificaciones (glucosilación, fosforilación, miristilación) y actividad funcional de las proteínas estructurales y no estructurales, y actividades funcionales especiales (transcriptasa, transcriptasa inversa, neuraminidasa, actividades de fusión).
5. Propiedades antigénicas, en particular reacciones a diversos antisueros.
6. Propiedades fisicoquímicas del virión, que incluyen masa molecular, densidad, pH de estabilidad, estabilidad térmica y susceptibilidad a los agentes físicos y químicos, en especial éter y detergentes.
7. Propiedades biológicas, lo que incluye el rango natural de hospedadores, modo de transmisión, relaciones con vectores, patogenicidad, tropismo hístico y patología.

Sistema taxonómico universal de virus

Se ha establecido un sistema en el que los virus se separan en grupos principales (denominados familias) con base en la morfología del virión, la estructura del genoma y las estrategias de replicación. Los nombres de cada familia de virus tienen el sufijo **-viridae**. En el cuadro 29-1 se muestra un esquema conveniente utilizado para fines de clasificación. Los diagramas de las familias de virus animales se muestran en la figura 29-2.

En cada familia hay subdivisiones, conocidas como género y que por lo común se basan en diferencias biológicas, genómicas, fisicoquímicas o serológicas. Los criterios utilizados para definir los géneros varían de una familia a otra. Los nombres

CUADRO 29-1 Familias de virus animales que contienen miembros capaces de infectar a seres humanos

Ácido nucleico principal	Simetría de la cápside	Virión: envuelto o desnudo	Susceptibilidad al éter	Número de capsómeros	Tamaño de la partícula viral	Tamaño del ácido nucleico en el virión (kb/kbp)	Tipo físico de ácido nucleico[b]	Familia de virus
DNA	Icosaédrica	Desnudo	Resistente	32	18 a 26	5.6	ss	Parvoviridae
					30	2.0 a 3.9	ss circular	Anelloviridae
				72	45	5	ds circular	Polyomaviridae
				72	55	8	ds circular	Papillomaviridae
				252	70 a 90	26 a 45	ds	Adenoviridae
		Envuelto	Susceptible	180	40 a 48	3.2	ds circular[c]	Hepadnaviridae
				162	150 a 200	125 a 240	ds	Herpesviridae
	Complejo	Cubierta compleja	Resistente[d]		230 × 400	130 a 375	ds	Poxviridae
RNA	Icosaédrica	Desnuda	Resistente	32	28 a 30	7.2 a 8.4	ss	Picornaviridae
					28 a 30	6.4 a 7.4	ss	Astroviridae
				32	27 a 40	7.4 a 8.3	ss	Caliciviridae
					27 a 34	7.2	ss	Hepeviridae
					35 a 40	4	ds segmentado	Picobirnaviridae
					60 a 80	16 a 27	ds segmentado	Reoviridae
		Envuelto	Susceptible	42	50 a 70	9.7 a 11.8	ss	Togaviridae
	Desconocido o complejo	Envuelto	Susceptible		40 a 60	9.5 a 12.5	ss segmentado	Flaviviridae
					50 a 300	10 a 14		Arenaviridae
					120 a 160	27 a 32	ss	Coronaviridae
					80 a 110	7 a 11[e]	ss diploide	Retroviridae
	Helicoidal	Envuelto	Susceptible		80 a 120	10 a 13.6	ss segmentado	Orthomyxoviridae
					80 a 120	11 a 21	ss segmentado	Bunyaviridae
					80 a 125	8.5 a 10.5	ss	Bornaviridae
					75 × 180	13 a 16	ss	Rhabdoviridae
					150 a 300	16 a 20	ss	Paramyxoviridae
					80 × 1000[f]	19.1	ss	Filoviridae

[a] Diámetro o diámetro × longitud.

[b] ds, bicatenario; ss, monocatenario.

[c] La cadena de sentido negativo tiene una longitud constante de 3.2 kb; las otras varían en longitud, dejando un gran espacio grande en la cadena única.

[d] El género *Orthopoxvirus* que incluye a los poxvirus, mejor estudiados (p. ej., variolovacuna) es resistente al éter; algunos poxvirus pertenecen a otros géneros y son susceptibles al éter.

[e] Tamaño del monómero.

[f] Las formas filamentosas varían en gran medida en cuanto a longitud.

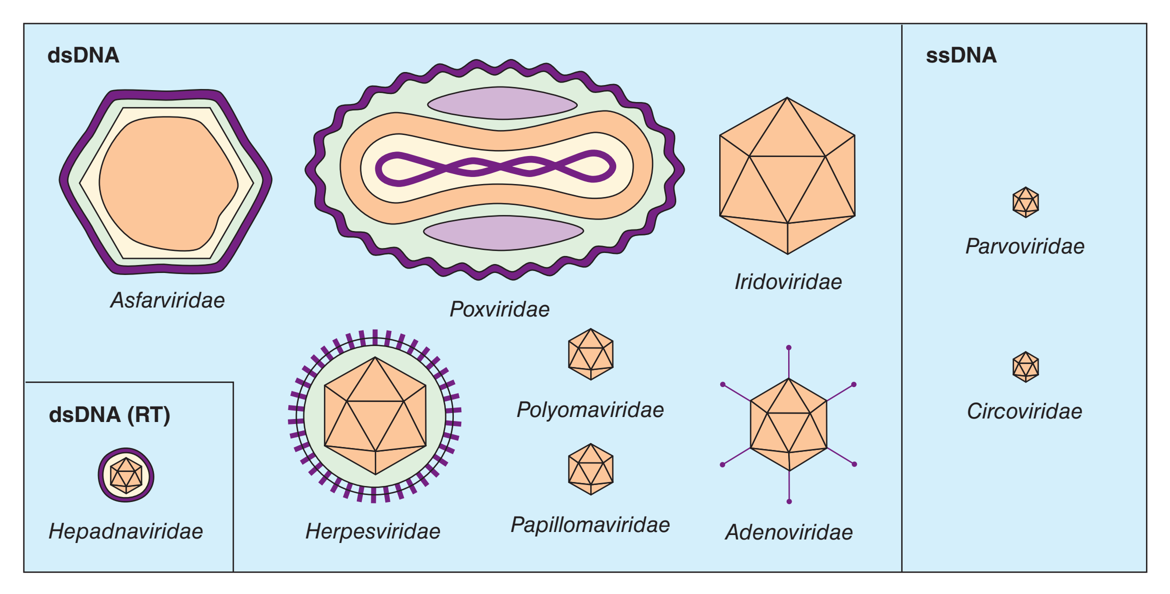
del género se acompañan del sufijo *-virus*. En varias familias (Herpesviridae, Paramyxoviridae, Parvoviridae, Poxviridae, Reoviridae, Retroviridae), se han definido unos agrupamientos más grandes denominados subfamilias, que reflejan la complejidad de las relaciones entre los virus. Pueden utilizarse órdenes de virus para agrupar las familias de virus que comparten características comunes. Por ejemplo, la orden de los Mononegavirales abarca las familias Bornaviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae y Rhabdoviridae. En el año de 2013, el *International Committee on Taxonomy of Viruses* organizó más de 2 500 especies de virus de animales y de plantas, en 103 familias y 455 géneros.

Las propiedades de las principales familias de virus animales que contienen miembros de importancia para enfermedades humanas se resumen en el cuadro 29-1. Más adelante se revisan de manera breve, en el orden mostrado en el cuadro 29-1 y se explican con mayor detalle en los capítulos siguientes.

Revisión rápida de los virus que contienen DNA

A. Parvovirus

Los parvovirus, del latín *parvus*, pequeño, son virus muy pequeños con un tamaño de partícula de entre 18 y 26 nm. Las partículas tienen simetría cúbica con 32 capsómeros, pero no tienen envoltura. El genoma es lineal, DNA monocatenario, con un tamaño de 5 kb. La replicación ocurre sólo en las células con división activa; la cápside se ensambla en el núcleo de



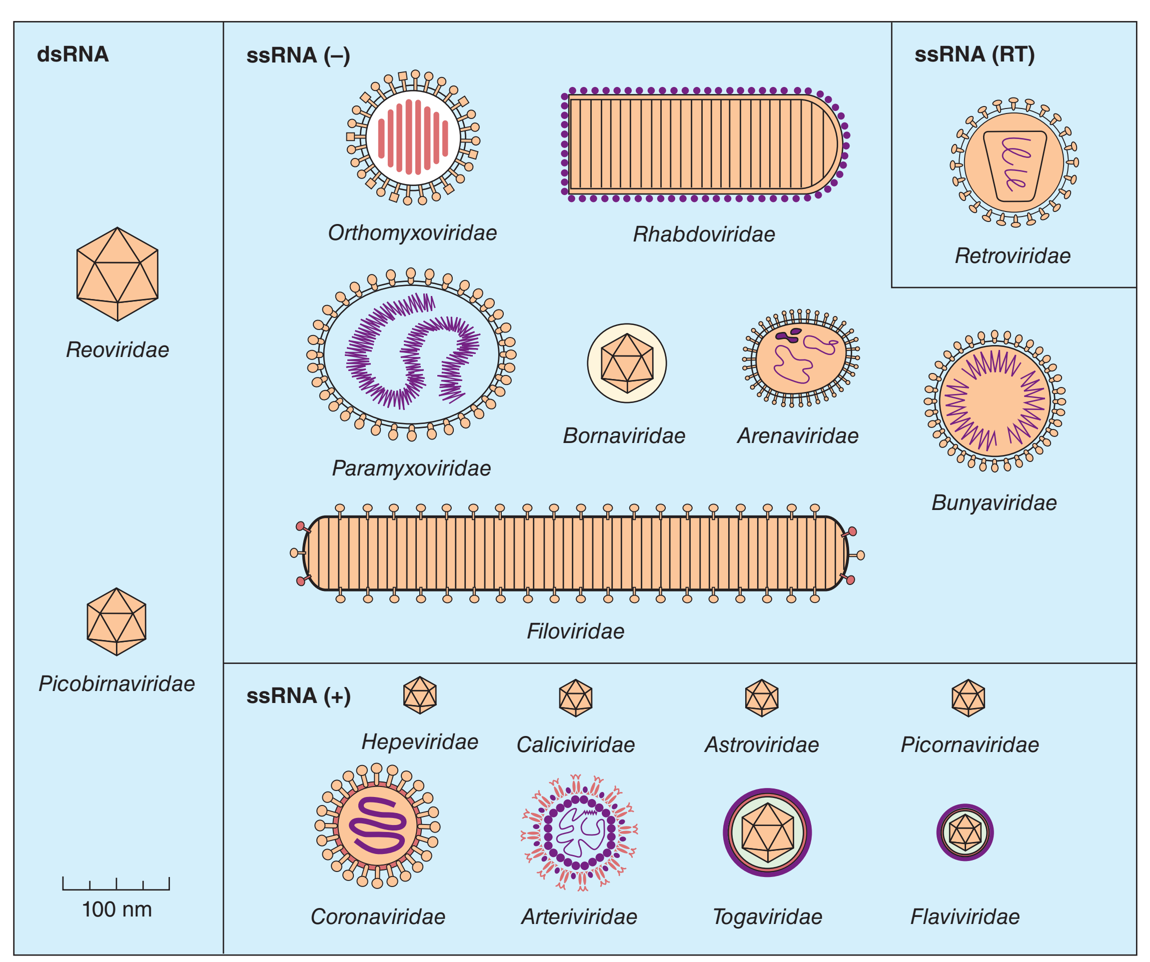


FIGURA 29-2 Formas y tamaños relativos de las familias de virus de animales que infectan vertebrados. En algunos diagramas, se representan ciertas estructuras internas de las partículas. Sólo se incluyen aquellas familias que son patógenas para los seres humanos y se enumeran en el cuadro 29-1 y se describen en el texto. (Con autorización de van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, *et al.* [editors]: *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Commmittee of Viruses.* Academic Press, 2000).

la célula infectada. Los parvovirus humanos B19 se replican en células eritroides inmaduras y causan varias consecuencias adversas que incluyen crisis aplásica, eritema infeccioso y muerte fetal (capítulo 31).

B. Anellovirus

Los anellovirus (del latín *anello*, anillo) son viriones icosahédricos pequeños (diámetro cercano a 30 nm) sin cubierta. El genoma viral incluye DNA de 2 a 4 kb de tamaño, dispuesto en sentido negativo, circular, DNA monocatenario. Los anellovirus incluyen los virus torque teno distribuido a nivel global en la población humana y otras especies animales. Hasta la fecha no se ha corroborado un vínculo específico con enfermedades.

C. Poliomavirus

Los poliomavirus (virus de polioma) son virus pequeños (45 nm), sin cubierta, termoestables, resistentes a solubilización, que presentan simetría cúbica con 72 capsómeros. Su nombre proviene de los términos griegos *poly* (muchos) y *–oma* (tumor) y denota la capacidad de algunos de estos virus para producir tumores u hospedadores infectados. El genoma es de DNA bicatenario circular de 5 kb de tamaño. Estas partículas tienen un ciclo de crecimiento lento, estimulan la síntesis de DNA de la célula y muestran replicación dentro del núcleo. Los poliomavirus más conocidos de seres humanos son el JC, agente causal de la leucoencefalopatía multifocal progresiva; el virus BK, vinculado con nefropatía en receptores de trasplantes; y el virus de células de Merkel, que puede ocasionar la mayor parte de los carcinomas cutáneos con ese tipo de células. SV40, virus de primates, también infecta a seres humanos. Muchas de las especies animales tienen infecciones crónicas por uno o varios de los poliomavirus (capítulo 43).

D. Papilomavirus

Los papilomavirus (virus del papiloma) son similares a los poliomavirus en algunos aspectos, pero su genoma (8 kb) y tamaño (55 a 60 nm) son más grandes. El nombre proviene del latín *papilla* (pezón) y del griego –oma (tumor); describe las lesiones verrugosas producidas por las infecciones. Algunos tipos de virus del papiloma humano son agentes causales de cáncer genital en la población. Los virus de papiloma muestran gran especificidad de hospedador y tejidos, y no proliferan *in vitro* en células cultivadas. Muchas especies animales son portadoras del virus de papiloma (capítulo 43).

E. Adenovirus

Los adenovirus (del latín *adenos*, glándula) son virus sin cubierta, de tamaño mediano (70 a 90 nm) que presentan simetría cúbica y protuberancias filiformes que sobresalen de los capsómeros; facilitan su fijación al huésped. Su genoma es DNA bicatenario lineal de 26 a 48 kb de tamaño. En el núcleo se efectúa la replicación. Los perfiles complejos de empalme generan mRNA. Cuando menos 57 tipos infectan a los seres humanos, en particular en las membranas mucosas, y algunos de ellos persisten en el tejido linfoide. Los adenovirus originan enfermedades agudas de vías respiratorias, conjuntivitis y gastroenteritis. Algunos adenovirus humanos inducen tumores en cricetos recién nacidos. Muchos serotipos infectan animales. (Consúltese los capítulos 32 y 43.)

F. Hepadnavirus

Los hepadnavirus (del latín *hepa*, hígado) son virus pequeños (40 a 48 nm) con cubierta que contiene moléculas de DNA parcialmente bicatenario y circular, que tienen en promedio tamaño de 3.2 kbp. La replicación comprende la reparación de espacios monocatenarios en DNA, transcripción de RNA y transcripción inversa del RNA para elaborar DNA genómico. El virus consiste en un centro de la nucleocápside icosahédrico de 27 nm con una cubierta fuertemente adherida que contiene lípido y un antígeno de superficie viral. La proteína de superficie se produce excesivamente de manera característica durante la replicación del virus, que acaece en el hígado y de ahí pasa al torrente sanguíneo. Los hepadnavirus como el virus de hepatitis B originan hepatitis aguda y crónica; las infecciones persistentes conllevan un gran riesgo de que al final se desarrolle cáncer de hígado. Se conocen tipos virales que infectan mamíferos y patos (capítulo 35).

G. Herpesvirus

Los herpesvirus (virus del herpes) son una familia de virus grandes 150 a 200 nm de diámetro. El término proviene del latín *herpes* (reptar), que describe la naturaleza propagada de las lesiones cutáneas por tales partículas. La nucleocápside tiene 100 nm de diámetro con simetría cúbica y 162 capsómeros, rodeados de una cubierta que tiene lípido. El genoma es de DNA bicatenario lineal, de 120 a 240 kb de tamaño. Las infecciones latentes pueden perdurar toda la vida del hospedador por lo común en las células ganglionares o linfoblastoides. Los virus herpéticos de seres humanos incluyen los tipos 1 y 2 del virus de herpes simple (lesiones de boca y genitales); el virus de varicela-zóster (varicela y zóster de la boca o boqueras), el virus citomegálico, el de Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa y vínculo con neoplasias de seres humanos); los herpesvirus humanos 6 y 7 (linfotrópicos) y el herpesvirus humano 8 (vinculado con sarcoma de Kaposi). En muchos animales se identifican otros herpesvirus (capítulos 33 y 43).

H. Poxvirus

Los poxvirus son grandes partículas rectangulares u ovoides de 220 a 450 nm de largo × 140-260 nm de ancho × 140-260 nm de espesor. La estructura de la partícula es compleja, con una cubierta que contiene lípido. Su nombre proviene del término anglosajón *pokkes* que denota bolsa, y se refiere a las lesiones vesiculares características de la piel.

El genoma es lineal, con cierre covalente, DNA bicatenario y un tamaño de 130 a 375 kb. Las partículas de poxvirus contienen casi 100 proteínas, las cuales incluyen muchas con actividad enzimática, como la RNA polimerasa dependiente de DNA. La replicación ocurre por completo en el citoplasma de la célula. Todos los poxvirus tienden a causar lesiones cutáneas. Algunos son patógenos para seres humanos (viruela, variolovacuna, molusco contagioso); otros son patógenos para animales y pueden infectar a los seres humanos (viruela vacuna, viruela de los simios) (capítulo 34).

Revisión rápida de los virus que contienen RNA

A. Picornavirus

Éstos son virus pequeños (28 a 30 nm), resistentes al éter que muestran simetría cúbica. El genoma de RNA tiene una sola cadena de sentido positivo (puede actuar como el mRNA) y un tamaño de 7.2 a 8.4 kb. Los grupos que infectan seres humanos son enterovirus (poliovirus, coxsackievirus, virus ECHO y rinovirus [más de 100 serotipos que causan resfriado común]) y hepatovirus (hepatitis A). Los rinovirus son lábiles en ácido y tienen una gran densidad; otros enterovirus son estables en ácido y tienen menor densidad. Los picornavirus que infectan animales incluyen aquellos que causan la fiebre aftosa del ganado y encefalomiocarditis de roedores (capítulo 36).

B. Astrovirus

Son similares en tamaño a los picornavirus (28 a 30 nm), pero las partículas muestran una forma característica de estrella en su superficie. El genoma consiste en mRNA lineal, de sentido positivo y monocatenario con un tamaño de 6.8 a 7.0 kb. Estos virus pueden vincularse con gastroenteritis en seres humanos y animales (capítulo 37).

C. Calicivirus

Éstos son similares a los picornavirus, pero ligeramente más grandes (27 a 40 nm). Las partículas parecen tener depresiones cóncavas en su superficie. El genoma consiste en RNA monocatenario y de sentido positivo con un tamaño de 7.3 a 8.3 kb; el virión no tiene envoltura. Los agentes patógenos importantes en seres humanos son los norovirus (p. ej., el virus Norwalk), que causa gastroenteritis aguda epidémica. Otros agentes son fuente de infecciones en gatos, leones marinos o en primates (capítulo 37).

D. Hepevirus

Éstos son similares a los calicivirus. Las partículas son pequeñas (32 a 34 nm) y resistentes al éter. El genoma consiste en RNA monocatenario, de sentido positivo con un tamaño de 7.2 kb. No cuentan con la proteína genómica de unión (VPg, *genome-linked protein*). A este grupo pertenece el virus de la hepatitis E de seres humanos (capítulo 35)

E. Picobirnavirus

Éstos son partículas sin cubierta, pequeñas (35 a 40 nm) de estructura icosahédrica. El genoma es de RNA lineal (dos segmentos) (bipartito), segmentado y bicatenario con un total alrededor de 4 kb.

F. Reovirus

Éstos son virus de tamaño medio (60 a 80 nm), resistentes al éter y sin envoltura, con simetría icosaédrica. Las partículas tienen dos o tres cubiertas proteínicas con conductos que se dirigen hacia toda la superficie y al centro del virus; proyecciones cortas que se extienden desde la superficie del virión. El genoma consiste en RNA lineal, bicatenario, segmentado (10 a 12 segmentos), con un tamaño total de 18 a 30 kbp. Los segmentos individuales de RNA varían en tamaño de 200 a 3 000 pares de bases. La replicación ocurre en el citoplasma; la redisposición de segmentos del genoma ocurre con facilidad. Los reovirus de seres humanos incluyen rotavirus, con su aspecto característico en forma de rueda y que causa gastroenteritis. Los reovirus con similitud antigénica causan infección en varios animales. El género *Coltivirus* abarca al virus de la fiebre por mordedura de garrapata del Colorado en seres humanos (capítulo 37).

G. Arbovirus y virus transportados por roedores

Los arbovirus y los virus transportados por roedores son grupos ecológicos (no constituyen una familia viral) de partículas con propiedades físicas y químicas diversas. Los arbovirus (que incluye más de 350) tienen ciclos complejos que comprenden artrópodos como vectores que transmiten el virus a hospedadores vertebrados por medio de una picadura. La replicación viral no parece dañar al artrópodo infectado. Los arbovirus infectan a seres humanos, mamíferos, aves y reptiles, y utilizan como vectores a mosquitos y garrapatas. Las enfermedades en seres humanos incluyen dengue, fiebre amarilla, fiebre del Nilo Occidental y encefalitis viral. Los virus transportados por roedores ocasionan infecciones persistentes en dichos animales y se transmiten sin un artrópodo vector. Las enfermedades en seres humanos comprenden las infecciones por hantavirus y la fiebre Lassa. Los virus dentro de los grupos ecológicos anteriores pertenecen a varias familias que incluyen arenavirus, bunyavirus, flavivirus, reovirus, rabdovirus y togavirus (capítulo 38).

H. Togavirus

Muchos arbovirus que son patógenos importantes en seres humanos se denominan alfavirus (p. ej., el virus de la rubéola) y pertenecen a este grupo. Tienen una envoltura que contiene lípidos, son susceptibles al éter y su genoma está compuesto por RNA monocatenario de sentido positivo con un tamaño de 9.7 a 11.8 kb. El virión cubierto mide 65 a 70 nm. Las partículas virales maduran por gemación a partir de las membranas de la célula hospedadora. Un ejemplo es el virus de la encefalitis equina oriental. El virus de la rubéola no tiene un artrópodo como vector (capítulos 38 y 40).

I. Flavivirus

Éstos son virus con envoltura, con un diámetro de 40 a 60 nm y que contienen RNA de sentido positivo, monocatenario. El tamaño del genoma varía de 9.5 a 12 kb. Los viriones maduros se acumulan en cisternas del retículo endoplásmico. Este grupo de arbovirus incluye el virus de la fiebre amarilla y del dengue. La mayor parte de estos virus se transmiten por artrópodos en macrófagos. El virus de la hepatitis C no tiene vector conocido (capítulos 35 y 38).

J. Arenavirus

Éstos son virus pleomorfos, con envoltura, que varían en tamaño de 60 a 300 nm (promedio, 110 a 130 nm). El genoma consiste en RNA segmentado, circular y monocatenario con sentido negativo y de doble sentido con un tamaño total de 10 a 14 kb. La replicación ocurre en el citoplasma con el ensamble a través de gemación en la membrana citoplásmica. Los viriones se incorporan en los ribosomas de la célula hospedadora

durante la maduración, lo cual les da un aspecto "arenoso". La mayor parte de los miembros de esta familia suele encontrarse en las regiones tropicales de América (p. ej., el complejo Tacaribe). Todos los arenavirus patógenos para los seres humanos causan infecciones crónicas en roedores. El virus de la fiebre Lassa de África es un ejemplo. Estos virus requieren condiciones de contención máxima en el laboratorio (capítulo 38).

K. Coronavirus

Los coronavirus son partículas con envoltura, de 120 a 160 nm de diámetro que contienen genoma no segmentado de sentido positivo con RNA monocatenario y un tamaño de 27 a 32 kb. Los coronavirus son similares a los ortomixovirus, pero tienen proyecciones de superficie en forma de pétalos dispuestos en flecos, similares a una corona solar. La nucleocápside de los coronavirus se desarrolla en el citoplasma y madura por gemación hacia vesículas citoplásmicas. Tales virus afectan a una reducida gama de hospedadores. En la mayor parte de los seres humanos, los coronavirus producen enfermedad respiratoria aguda leve ("resfriados"), pero los nuevos coronavirus causan síndrome respiratorio agudo grave (SARS, *severe acute respiratory syndrome*) y síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS, *middle east respiratory syndrome*). Los torovirus que originan gastroenteritis son un género distinto de virus que causan dicho trastorno. Los coronavirus de animales generan con facilidad infecciones persistentes e incluyen hepatitis viral y bronquitis infecciosa aviar viral (capítulo 41).

L. Retrovirus

Los retrovirus son partículas esféricas con envoltura (diámetro de 80 a 110 nm), cuyo genoma contiene dos copias de RNA bicatenario en sentido positivo y lineal. Cada monómero de RNA tiene un tamaño de 7 a 11 kb. Las partículas contienen una nucleocápside helicoidal con cápside icosaédrica. La replicación es singular; el virión contiene la enzima transcriptasa inversa que produce una copia de DNA a partir del genoma formado por RNA. Este DNA adquiere forma circular y se integra en el DNA cromosómico del hospedador. El virus se replica a partir de un "provirus" integrado a la copia de DNA. El ensamble del virión ocurre por gemación en las membranas plasmáticas. El hospedador sufre infección crónica. Los retrovirus tienen distribución amplia; también existen provirus endógenos como consecuencia de infecciones antiguas de células germinativas transmitidas como genes hereditarios en la mayor parte de las especies. En este grupo se incluyen los virus de la leucemia y sarcoma de animales y seres humanos (capítulo 43), los virus espumosos de primates y los lentivirus (virus de la inmunodeficiencia humana; visna en ovejas) (capítulos 42 y 44). Los retrovirus causan síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) (capítulo 44) y hacen posible la identificación de oncogenes celulares (capítulo 43).

M. Ortomixovirus

Son virus con envoltura, de tamaño mediano (80 a 120 nm) que muestran simetría helicoidal. Las partículas son redondas o filamentosas con proyecciones superficiales que contienen actividad de hemaglutinina o neuraminidasa. El genoma consiste en RNA lineal, segmentado, de sentido negativo y monocatenario con un tamaño de 10 a 13.6 kb. Los segmentos varían de 890 a 2 350 nucleótidos cada uno. El virus maduro causa gemación en la membrana celular. Todos los ortomixovirus son virus de la gripe (influenza) que infectan a los seres humanos o los animales. La naturaleza segmentada del genoma viral permite el fácil arreglo genético cuando todos los virus de la gripe infectan la misma célula, tal vez al acelerar la alta tasa de variación natural entre los virus de la gripe. La recombinación viral y la transmisión a partir de otras especies explican el surgimiento de las nuevas cepas de virus A de la gripe que causan pandemias en seres humanos (capítulo 39).

N. Bunyavirus

Éstos son partículas esféricas o pleomorfas, con envoltura, de 80 a 120 nm. El genoma está constituido por RNA trisegmentado, monocatenario y de sentido negativo o de ambos sentidos, con un tamaño general de 11 a 19 kb. Las partículas del virión contienen tres nucleocápsides circulares, con simetría helicoidal de casi 2.5 nm de diámetro y una longitud de 200 a 3 000 nm. La replicación se lleva a cabo en el citoplasma y la cubierta se adquiere por gemación en el aparato de Golgi. La mayor parte de los virus se transmite a vertebrados por medio de artrópodos (arbovirus). Los hantavirus no se transmiten a través de artrópodos, pero causan infección persistente en roedores a través de aerosoles de excretas contaminadas; causan fiebre hemorrágica y nefropatía, así como síndrome pulmonar grave (capítulo 38).

O. Bornavirus

Son virus esféricos (70 a 130 nm), con envoltura. El genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 8.5 a 10.5 kb de tamaño. Una característica singular entre los virus RNA no segmentados, de sentido negativo es que la replicación y la transcripción del genoma viral ocurre en el núcleo. El virus de la enfermedad de Borna es neurotrópico en animales y se ha propuesto una posible vinculación con trastornos neuropsiquiátricos en seres humanos, que no se ha demostrado (capítulo 42).

P. Rabdovirus

Éstos son viriones con envoltura, tienen forma de una bala, son planos en un extremo y redondeados en el otro, con tamaño de casi 75 × 180 nm. La envoltura tiene espículas de 10 nm. El genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 11 a 15 kb. Las partículas se forman por gemación a partir de la membrana celular. Los virus tienen una amplia gama de hospedadores. El virus de la rabia pertenece a este grupo (capítulo 42).

Q. Paramyxovirus

Éstos son similares a los ortomixovirus, pero más grandes (150 a 300 nm). Las partículas son pleomorfas. La nucleocápside interna mide 13 a 18 nm y el genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 16 a 20 kb. La nucleocápside y la hemaglutinina se forman en el citoplasma. Aquellos que producen infección en seres humanos incluyen los virus de parotiditis, sarampión, parainfluenza y sincicial respiratorio. Tales virus tienen una gama estrecha de hospedadores. A diferencia de los virus de

la gripe, los paromixovirus son estables desde el punto de vista genético (capítulo 40).

R. Filovirus

Éstos son virus pleomorfos, con envoltura que pueden tener un aspecto muy largo y filiforme. Por lo común, tienen 80 nm de ancho y casi 1 000 nm de longitud. La cubierta contiene peplómeros. El genoma consiste en RNA lineal, de sentido negativo, monocatenario con un tamaño de 18 a 19 kb. Los virus del Ébola y Marburg causan fiebre hemorrágica grave en África. Estos virus requieren medidas de contención enérgicas (nivel 4 de bioseguridad) para su manipulación (capítulo 38).

S. Virus de reciente incorporación

Los virus nuevos se descubren con frecuencia cada vez mayor y muchos pertenecen a familias existentes, pero en contadas ocasiones no son clasificables. Algunos de ellos ocasionan enfermedad en seres humanos aunque muchos afectan a otras especies (capítulo 48).

T. Viroides

Los viroides son partículas infecciosas pequeñas que originan enfermedades de plantas. No se ajustan a la definición de los virus clásicos. Son moléculas de ácido nucleico sin una envoltura proteínica. Los viroides de vegetales son moléculas de RNA circulares con cierre covalente y monocatenarios que consisten en unos 360 nucleótidos; tienen una estructura cilíndrica con pares de bases muy ajustadas. Muestran replicación por un mecanismo totalmente nuevo. El RNA viroide no codifica productos proteínicos y las enfermedades devastadoras en plantas inducidas por tales partículas se producen por un mecanismo desconocido. El virus de hepatitis D en seres humanos posee propiedades similares a las de los viroides.

U. Priones

Los priones son partículas infecciosas compuestas sólo de proteínas sin ácido nucleico detectable. Son fuertemente resistentes a la inactivación por calor, formaldehído y luz ultravioleta que inactiva a los virus. La proteína infectante del prión muestra plegamiento erróneo y cambia la conformación de la proteína nativa del prión codificada por un solo gen celular. Las enfermedades por priones, denominadas "encefalopatías espongiformes transmisibles", incluyen la encefalopatía espongiforme ovina, la enfermedad de las vacas locas en el ganado, y kuru y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos. (capítulo 42).

PRINCIPIOS DE LA ESTRUCTURA VIRAL

Los virus se presentan en muchas formas y tamaños. Es necesaria la información estructural para la clasificación de los virus y para establecer relaciones entre la estructura y la función de proteínas virales. Las características estructurales particulares de cada familia de virus dependen de las funciones del virión: morfogénesis y liberación a partir de células infectadas; transmisión a nuevos hospedadores y unión, penetración y pérdida de la cubierta de células recién infectadas. El conocimiento de la estructura viral incrementa la comprensión de los mecanismos de ciertos procesos, como la interacción de partículas virales con los receptores de superficie celular y neutralización por anticuerpos. Puede llevar también al diseño racional de fármacos antivirales capaces de bloquear la unión viral, eliminar la cubierta viral o el ensamble en células susceptibles.

Tipos de simetría de las partículas virales

La microscopia electrónica, la microscopia por crioelectrones y las técnicas de difracción con rayos X han hecho posible resolver diferencias finas en la morfología básica de los virus. El estudio de la simetría viral con microscopia electrónica estándar requiere el uso de tinciones con metales pesados (p. ej., fosfotungstenato de potasio) para hacer énfasis en las estructuras de superficie. Las partículas virales absorben el metal pesado y resaltan la estructura superficial del virus por virtud de una "captación negativa del colorante". El nivel típico de resolución es de 3 a 4 nm (el tamaño del DNA bicatenario es de 2 nm). Sin embargo, los métodos convencionales de preparación de muestras a menudo causan distorsiones y cambios en la morfología de la partícula. La microscopia crioelectrónica utiliza muestras virales con congelamiento rápido en hielo vítreo; se conservan las características estructurales finas y se evita el uso de colorantes negativos. Puede obtenerse información de la estructura tridimensional con el uso de procedimientos de procesamiento de imágenes por computadora. Los ejemplos de reconstrucciones de imágenes de partículas virales se muestran en los siguientes capítulos (capítulos 32 y 37).

La cristalografía con rayos X puede proporcionar información con resolución al nivel atómico, por lo general de 0.2 a 0.3 nm. La muestra debe ser cristalina y esto sólo se logra con virus pequeños, sin envoltura. Sin embargo, es posible obtener datos estructurales de alta resolución sobre estructuras bien definidas preparadas con virus más complejos.

La economía genética requiere que la estructura viral se construya a partir de moléculas idénticas producidas con unas cuantas proteínas. La estructura viral puede agruparse en tres tipos, con base en la disposición de sus subunidades morfológicas: 1) simetría cúbica, por ejemplo, adenovirus; 2) simetría helicoidal, como ortomixovirus y 3) estructuras complejas, por ejemplo, poxvirus.

A. Simetría cúbica

Toda la simetría cúbica observada en virus animales tiene un patrón icosaédrico; la disposición más eficiente para subunidades es una cubierta cerrada. El icosaedro tiene 20 caras (cada una con forma de triángulo equilátero), 12 vértices y con cinco, tres y dos ejes de simetría de rotación. El vértice de las unidades tiene cinco estructuras vecinas (pentavalente) en tanto que otras poseen seis (hexavalente).

Hay 60 subunidades idénticas en la superficie de un icosaedro. Para construir una partícula de tamaño adecuado para cubrir el genoma viral, las cápsides virales están compuestas por múltiples unidades estructurales de 60 subunidades. En algunos casos, las estructuras de cápside de mayor tamaño se forman para acomodar las dimensiones del genoma viral, al que se agregan subunidades proteínicas adicionales.

La mayor parte de los virus que tienen simetría icosaédrica no presenta forma de icosaedro, más bien el aspecto es de una partícula esférica.

El ácido nucleico viral se condensa en partículas isométricas; las proteínas del centro codificadas por el virus (o en el caso de los poliomavirus y virus del papiloma, histonas celulares) participan en la condensación de los ácidos nucleicos en forma adecuada para empacarse. Las "secuencias de embalaje" de los ácidos nucleicos virales están relacionadas con el ensamble para la formación de partículas virales. Hay limitantes de tamaño en las moléculas de ácido nucleico que pueden almacenarse en una cápside icosaédrica dada. Las cápsides icosaédricas se forman de manera independiente del ácido nucleico. La mayor parte de las preparaciones de virus isométricos contienen algunas partículas "vacías", que carecen de ácidos nucleicos virales. La expresión de proteínas de la cápside a partir de genes clonados a menudo ocasiona el ensamble y la formación de partículas "virales" sin contenido de ácidos nucleicos. Los grupos virales con DNA o RNA son ejemplos de simetría cúbica.

B. Simetría helicoidal

En casos de simetría helicoidal, las subunidades proteínicas se unen de forma periódica al ácido nucleico viral, lo cual da origen a una hélice. El complejo filamentoso del ácido nucleico de proteínas virales (nucleocápside) se enrolla en el interior de una envoltura que contiene lípidos. Así, como no ocurre con estructuras icosaédricas, hay una interacción regular, periódica, entre las proteínas de la cápside y los ácidos nucleicos en virus con simetría helicoidal. No es posible que se formen partículas helicoidales "vacías".

Todos los ejemplos conocidos de virus animales con simetría helicoidal contienen genoma de RNA y, con excepción de los rabdovirus, tienen nucleocápsides flexibles con envolturas en el interior de las cuales se forma un ovillo (figuras 29-1B, 29-2 y 42-1).

C. Estructuras complejas

Algunas partículas virales no muestran simetría cúbica o helicoidal simples, sino que presentan estructuras más complicadas. Por ejemplo, los poxvirus tienen forma de ladrillo con bordes en la superficie externa, y un núcleo y cuerpos laterales en su interior (figuras 29-2 y 34-1).

Medición del tamaño de los virus

Los atributos clásicos de los virus incluyen su tamaño pequeño y la capacidad de pasar a través de filtros que retienen bacterias. Sin embargo, como algunas bacterias pueden ser más pequeñas que el virus más grande, la filtración no es una característica singular de los virus.

La observación directa en el microscopio electrónico es el método utilizado con mayor frecuencia para calcular el tamaño de una partícula. Los virus pueden observarse en preparaciones de extractos hísticos y en cortes ultradelgados de células infectadas. Otro método que puede utilizarse es la sedimentación en la ultracentrifugadora. Las relaciones entre el tamaño y la forma de la partícula y su tasa de sedimentación permiten calcular el tamaño de la partícula.

A. Mediciones comparativas

El diámetro de los virus varía de 20 a 300 nm (cuadro 29-1). Con fines de comparación, hay que recordar los datos siguientes: 1) los estafilococos tienen un diámetro aproximado de 1 000 nm (1 μm); 2) los virus bacterianos (bacteriófagos) tienen tamaño variable (10 a 100 nm); algunos son esféricos o hexagonales y poseen colas cortas o largas; 3) las moléculas proteínicas representativas varían en diámetro desde el tamaño de la albúmina sérica (5 nm) y las globulinas (7 nm) hasta ciertas hemocianinas (23 nm); 4) los ribosomas eucarióticos tienen 25 a 30 nm de diámetro y las mitocondrias son mucho mayores (1 a 10 μm); 5) los eritrocitos tienen 6 a 8 μm de diámetro y 6) un cabello de seres humanos tiene cerca de 100 μm de grosor.

Los tamaños relativos y las características morfológicas de varias familias de virus se muestran en la figura 29-2. Las partículas con el doble de diámetro tienen una diferencia de ocho veces en cuanto al volumen. Así, la masa de un poxvirus es casi 1 000 veces más grande que la de la partícula del poliovirus, en tanto que la masa de una bacteria pequeña es 50 000 veces más grande.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VIRUS

Proteínas virales

Las proteínas estructurales de los virus tienen varias funciones importantes. Su principal objetivo es facilitar la transferencia de ácidos nucleicos virales de una célula hospedadora a otra. Sirven para proteger el genoma viral contra la inactivación por las nucleasas, participan en la unión de la partícula viral a las células susceptibles y proporcionan la simetría estructural de la partícula viral.

Las proteínas determinan las características antigénicas del virus. Los mecanismos de respuesta inmunitaria protectora del hospedador se dirigen contra determinantes antigénicos de las proteínas o glucoproteínas expuestas en la superficie de la partícula viral. Algunas proteínas de superficie pueden mostrar actividad específica, por ejemplo, la hemaglutinina del virus de la gripe produce la aglutinación de eritrocitos.

Algunos virus portan enzimas (proteínas) en el interior de los viriones. Tales enzimas se presentan en cantidades muy pequeñas y quizá no son importantes en la estructura de las partículas virales; sin embargo, son esenciales para el inicio del ciclo de replicación viral cuando el virión entra en la célula del hospedador. Algunos ejemplos incluyen la RNA polimerasa que porta los virus con genomas con RNA de sentido negativo (p. ej., ortomixovirus, rabdovirus) y que es necesaria para copiar el primer mRNA, así como la transcriptasa inversa, una enzima presente en los retrovirus que producen una copia de DNA a partir del RNA viral, un paso esencial en la replicación y la transformación. En el extremo opuesto en este sentido se encuentran los poxvirus, cuyos centros contienen un sistema de transcripción; muchas enzimas diferentes se encuentran agrupadas en las partículas de poxvirus.

Ácido nucleico viral

Los virus contienen un solo tipo de ácido nucleico (ya sea DNA o RNA) que codifica la información genética necesaria para la replicación de los virus. El genoma puede ser monocatenario o bicatenario, circular o lineal, segmentado o no segmentado. El tipo de ácido nucleico, su polaridad y sus dimensiones,

constituyen características importantes utilizadas para clasificar a los virus en familias (cuadro 29-1).

El tamaño del DNA del genoma viral varía de 3.2 kbp (hepadnavirus) a 375 kbp (poxvirus). El tamaño del RNA del genoma viral varía de casi 4 kb (algunos picornavirus) a 32 kb (coronavirus).

Todos los grupos de DNA virus que se muestran en el cuadro 29-1 tienen genomas con una sola molécula de DNA y tienen configuración lineal o circular.

El RNA viral existe en varias formas. El RNA puede ser una molécula lineal única (p. ej., picornavirus). Para otros virus (p. ej., ortomixovirus), el genoma consiste en varios segmentos de RNA que pueden tener poca relación en el virión. El RNA viral aislado con genomas de sentido positivo (picornavirus, togavirus) es infeccioso y la molécula funciona como mRNA en la célula infectada. El RNA de sentido negativo, aislado de un RNA virus, como los rabdovirus y los ortomixovirus, no es infeccioso. Para estas familias virales, el virión porta la RNA polimerasa que en la célula produce la transcripción de las moléculas de RNA genómico en moléculas de RNA complementario, cada una de las cuales actúa como una plantilla de mRNA .

La secuencia y la composición de los nucleótidos de cada ácido nucleico viral son características. Muchos genomas virales han sido secuenciados. Las secuencias pueden revelar relaciones genéticas en las moléculas aisladas, lo cual incluye relaciones inesperadas entre virus que no parecían tener relación estrecha. El número de genes en un virus puede calcularse a partir de lecturas de marcos abiertos que se deducen a partir de la secuencia de ácidos nucleicos.

Los análisis de reacción en cadena de polimerasa y las técnicas de hibridación molecular permiten el estudio de la transcripción de genoma viral en células infectadas, así como la comparación de la relación de diferentes virus. Los ácidos nucleicos virales pueden caracterizarse por su contenido de G + C. Los genomas virales pueden analizarse y compararse al utilizar endonucleasas de restricción, enzimas que rompen el DNA en secuencias específicas de nucleótidos. Cada genoma da origen a patrones característicos de fragmentos de DNA después del desdoblamiento con una enzima en particular. Mediante copias clonadas de DNA o RNA, pueden derivarse mapas de restricción a partir de genomas de RNA viral.

Envolturas lipídicas de los virus

Varios virus diferentes contienen envolturas lipídicas como parte de su estructura. Los lípidos se adquieren cuando la nucleocápside viral forma vesículas a través de la membrana celular en el trayecto de su maduración. La gemación ocurre sólo en sitios donde se han insertado proteínas virales específicas en la membrana de la célula hospedadora. El proceso de gemación varía de manera notable, según sea la estrategia de replicación del virus y de la estructura de la nucleocápside. En la figura 29-3, se muestra el mecanismo de gemación del virus de la gripe.

La composición de fosfolípidos de la envoltura del virión depende del tipo específico de membrana celular que participó en el proceso de gemación. Por ejemplo, el herpesvirus crea yemas a través de la membrana nuclear de la célula hospedadora y la composición de fosfolípidos del virus purificado refleja el contenido de lípidos de la membrana nuclear. La adquisición de una membrana con lípidos es un paso integral en la morfogénesis del virión en algunos grupos virales (véase más adelante Replicación de los virus).

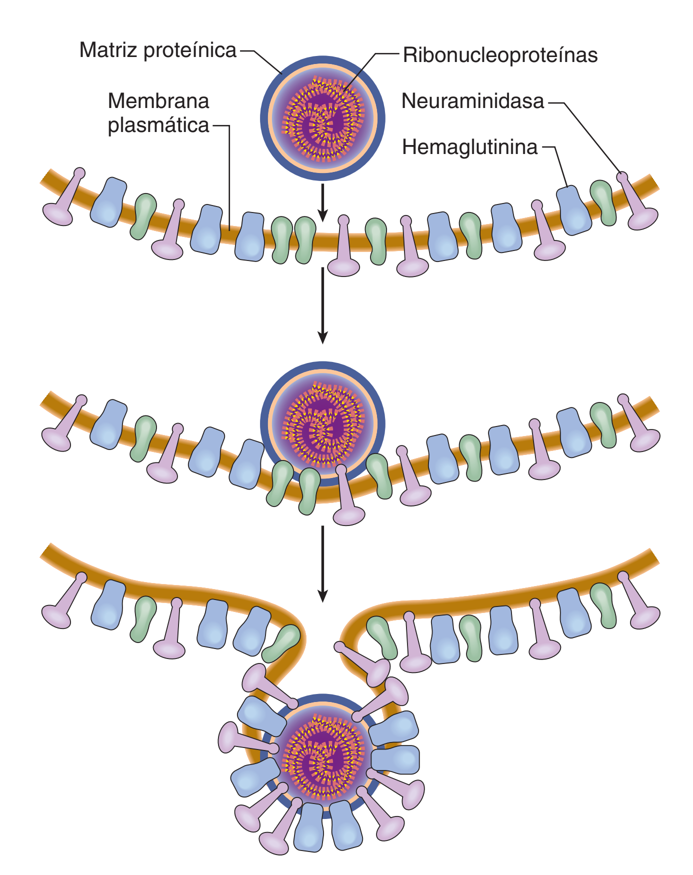


FIGURA 29-3 Liberación del virus de la gripe por gemación de la membrana plasmática. En primer lugar, las proteínas de la envoltura viral (hemaglutinina y neuraminidasa) se insertan en la membrana plasmática del hospedador. Más tarde, la nucleocápside se acerca a la superficie interna de la membrana y se une a ella. Al mismo tiempo, se acumulan proteínas virales en el sitio y se excluyen las proteínas de membrana del hospedador. Por último, se forma una protuberancia en la membrana plasmática para formar simultáneamente la envoltura viral y liberar el virión maduro. (Con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*. 7a. Ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

Los virus que contienen lípidos son sensibles al tratamiento con éter y con otros solventes orgánicos (cuadro 29-1), lo cual indica la pérdida de los lípidos que da origen a la pérdida de la capacidad de infección. Los virus que no contienen lípidos suelen ser resistentes al éter.

Glucoproteínas virales

Las envolturas virales contienen glucoproteínas. A diferencia de los lípidos en las membranas virales, que se derivan de las células del hospedador, las envolturas de glucoproteínas son codificadas por el virus. Sin embargo, los carbohidratos añadidos a las glucoproteínas virales son reflejo de la célula hospedadora en la cual creció el virus.

Las glucoproteínas de superficie de un virus con envoltura son las que unen a la partícula viral con la célula hospedadora

al interactuar con el receptor celular. A menudo participan en la fusión de la membrana como una etapa de la infección. Las glucoproteínas también son antígenos virales importantes. Como consecuencia de su posición en la superficie externa del virión, con frecuencia participan en la interacción de la partícula viral con los anticuerpos neutralizantes. La glucosilación amplia de las proteínas de la superficie viral puede evitar la neutralización eficaz de la partícula viral por anticuerpos específicos. Por medio de cristalografía de rayos X se han podido conocer las estructuras tridimensionales de las regiones externas expuestas de algunas glucoproteínas virales (figura 39-2). Tales estudios proporcionan información respecto a la estructura antihigiénica y actividad funcional de las glucoproteínas virales.

CULTIVO Y ANÁLISIS VIRALES

Cultivos de virus

Muchos virus pueden crecer en cultivos celulares o en huevos fértiles bajo condiciones estrictamente controladas. El crecimiento de virus en animales aún se utiliza con fines de aislamiento primario para ciertos virus y para estudios de patogenia de enfermedades virales y de oncogénesis viral. Los laboratorios diagnósticos intentan recuperar virus de muestras clínicas para confirmar las causas de la enfermedad (capítulo 47). Los laboratorios de investigación cultivan virus como la base para el análisis detallado de la replicación viral y la función de la proteína.

El desarrollo en células *in vitro* es fundamental para el cultivo y la identificación de virus. Hay tres tipos básicos de cultivos celulares. Los cultivos primarios se elaboran mediante la dispersión de células (por lo común, con tripsina) a partir de tejidos frescos extirpados del hospedador. En general, son incapaces de crecer después de unos cuantos intercambios entre medios de cultivo. Las líneas celulares diploides son cultivos secundarios que han sufrido un cambio que permite su cultivo limitado (hasta 50 intercambios), pero que conservan su patrón cromosómico normal. Las líneas celulares continuas son cultivos capaces de crecimiento más prolongado (quizá indefinido) y que se han derivado de líneas celulares diploides o de tejidos malignos. De forma invariable, tienen cromosomas alterados y en números irregulares. El tipo de cultivo celular utilizado para cultivo viral depende de la sensibilidad de las células a un virus en particular.

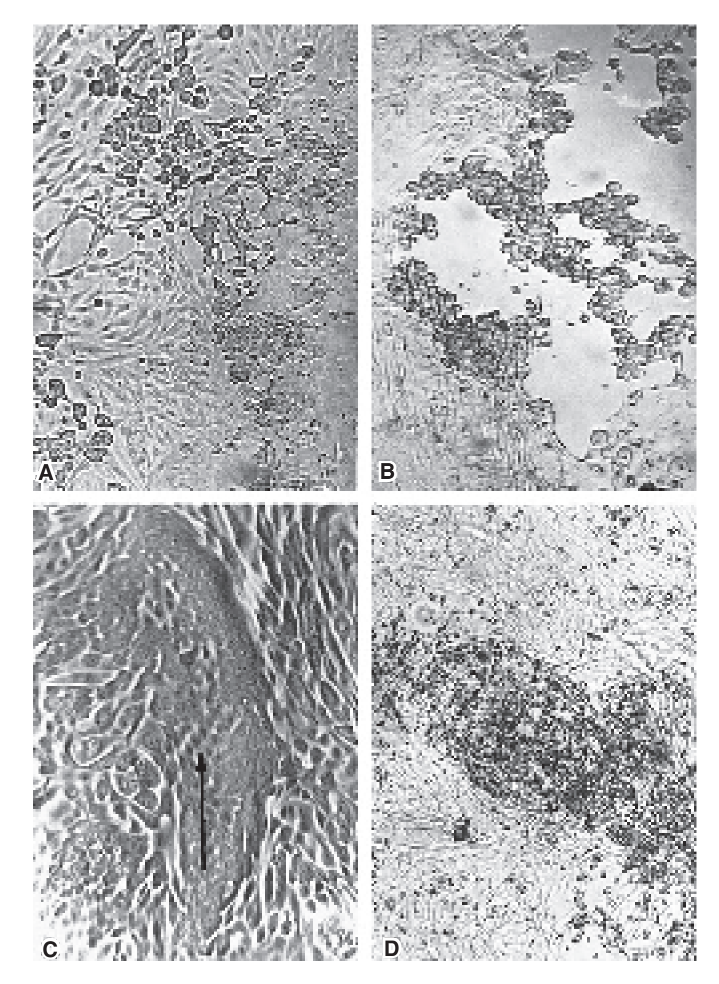


FIGURA 29-4 Efectos citopáticos producidos en monocapas de células cultivadas con virus diferentes. Los cultivos se muestran como se perciben de forma normal en el laboratorio, sin fijación y sin tinción (60x). **A:** Enterovirus: las células adquieren con rapidez aspecto redondeado, que progresa a la destrucción celular completa. **B:** Herpesvirus, con áreas focales de células redondeadas hinchadas. **C:** Paramixovirus: áreas focales con células fusionadas (sincitio). **D:** Hemadsorción. Los eritrocitos se adhieren a aquellas células en la monocapas que están infectadas por el virus que causa que la hemaglutinina se incorpore en la membrana plasmática. Muchos virus envueltos que maduran por gemación de la membrana citoplásmica producen hemadsorción. (Cortesía de I. Jack.)

A. Detección de las células infectadas con virus

La multiplicación de un virus puede vigilarse de diversas maneras:

1. Generación de efectos citopáticos (por ejemplo, los cambios morfológicos en las células). Los tipos de efectos citopáticos inducidos por virus incluyen lisis o necrosis celulares, formación de cuerpos de inclusión o de células gigantes, y vacuolación citoplásmica (figura 29-4A, B y C).
2. Aspecto de las proteínas codificadas por el virus, como la hemaglutinina del virus de la gripe. Pueden utilizarse antisueros específicos para detectar la síntesis de proteínas virales en células infectadas.
3. La detección de ácidos nucleicos virales específicos. Los análisis moleculares, como la reacción en cadena de polimerasa, proporcionan un método rápido, sensible y específico para la detección.
4. Adsorción de eritrocitos por las células infectadas, lo cual se conoce como hemadsorción, por la presencia de hemaglutinina codificada por el virus (virus de parainfluenza, de gripe) en membranas celulares. Esta reacción se torna positiva antes que se observen cambios citopáticos y, en algunos casos, ocurre en ausencia de efectos citopáticos (figura 29-4D).
5. El crecimiento de virus en embriones de pollo puede ocasionar la muerte del embrión (p. ej., virus de la encefalitis), la producción de placas en la membrana coroalantoidea (p. ej., herpes, viruela, vaccinia) o el desarrollo de hemaglutininas en los líquidos o tejidos embrionarios (p. ej., gripe).

B. Formación de cuerpos de inclusión

En el curso de la multiplicación viral en las células, pueden producirse estructuras virales específicas conocidas como cuerpos de inclusión. A menudo se tornan más grandes que las partículas virales individuales y casi siempre tienen afinidad por colorantes ácidos (p. ej., eosina). Pueden ubicarse en el núcleo (herpes virus; figura 33-3), en el citoplasma (poxvirus, virus de la rabia) o en ambos (virus del sarampión; figura 40-5). En muchas infecciones virales, los cuerpos de inclusión son el sitio de desarrollo de viriones ("fábricas de virus"). Las variaciones en el aspecto del material de inclusión dependen del fijador hístico y la tinción utilizados

Cuantificación de los virus

A. Métodos físicos

Los análisis que se basan en la cuantificación de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de polimerasa pueden cuantificar el número de copias de genoma viral en una muestra. Se detectan genomas infecciosos y no infecciosos. La variación en la secuencia viral puede reducir la detección de virus y la cuantificación con el empleo de este método.

Diversas pruebas serológicas, como el radioinmunoanálisis (RIA) y los enzimoinmunoanálisis de adsorción (capítulo 47) pueden estandarizarse para cuantificar la cantidad de virus en la muestra. Tales pruebas no diferencian partículas infecciosas o no infecciosas y en ocasiones detectan proteínas virales no ensambladas en partículas.

Ciertos virus contienen una proteína (hemaglutininas) que tiene la capacidad de producir la aglutinación de eritrocitos humanos o de alguna otra especie animal. Los análisis de hemaglutinación son un método fácil y rápido de cuantificación de estos tipos de virus (capítulo 47). Las partículas infecciosas y no infecciosas son positivas en esta reacción; por lo tanto, mediante la hemaglutinación es posible medir la cantidad total de virus presentes.

Las partículas virales pueden contarse directamente en la microscopia electrónica mediante la comparación con una suspensión estándar de partículas de látex de un tamaño similar. Sin embargo, para este procedimiento es necesario utilizar preparaciones concentradas de virus y las partículas virales infecciosas no pueden diferenciarse de las no infecciosas.

B. Métodos biológicos

Los criterios de valoración de los estudios biológicos dependen de la medición de la muerte animal, la infección animal o los efectos citopáticos en cultivos de tejidos en diluciones seriadas del virus estudiado. Las concentraciones se expresan como 50% de la dosis infecciosa (ID_{50}), que es el recíproco de la dilución de virus que produce un efecto en 50% de las células o animales inoculados. La proporción entre el número de partículas infectantes y el número total de partículas virales varía de forma amplia, desde una cifra cercana a la unidad, a menos de un caso por 1 000, pero muy a menudo es de uno por varios cientos. El análisis preciso requiere el uso de grandes números de sujetos estudiados.

Un método muy utilizado para detectar virus infectantes es el análisis de placa, aunque se utiliza más bien en virus que proliferan de modo satisfactorio en cultivos de tejidos. Las monocapas de células hospedadoras se inoculan con diluciones apropiadas de virus y después de la adsorción son cubiertas con un medio que contiene agar o carboximetilcelulosa para evitar la diseminación del virus a todo el cultivo. Después de varios días, las células infectadas al inicio generan virus que se diseminan sólo a las células circundantes. Múltiples ciclos de replicación y destrucción celulares dan lugar a un área pequeña de infección (placa). La duración del tiempo desde la infección a la formación de placas depende del ciclo de replicación del virus y puede variar desde unos cuantos días (p. ej., poliovirus) a dos semanas o más (p. ej., SV40). Bajo condiciones controladas, puede originarse una placa única a partir de una partícula viral infecciosa, lo que se conoce como unidad formadora de placa (PFU, *plaque-forming unit*). El efecto citopático de la célula infectada en la placa puede diferenciarse de las células no infectadas de la monocapa con o sin una tinción apropiada y por lo común las placas pueden contarse a simple vista.

Un método rápido de cuantificación se basa en el recuento de las células infectadas que producen un antígeno viral, como la inmunofluorescencia.

Ciertos virus, como el herpesvirus y la variolovacuna, forman cavidades cuando se inoculan en la membrana corioalantoidea en un huevo en etapa embrionaria. Tales virus se cuantifican con base en el número de cavidades contadas en comparación con la dilución de virus inoculados.

PURIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS

Purificación de partículas virales

Debe contarse con virus puros a fin de estudiar ciertos tipos de propiedades y aspectos de biología molecular del agente. Para estudios de purificación, el material inicial por lo común utiliza grandes volúmenes de medios de cultivo de tejidos, líquidos corporales o células infectadas. El primer paso por lo general incluye la concentración de partículas virales mediante la precipitación con sulfato de amonio, etanol o polietilenglicol o por ultrafiltración. La hemaglutinación y la elución pueden utilizarse para concentrar ortomixovirus (capítulo 39). Después que se han concentrado, los virus pueden separarse del material del hospedador por centrifugación diferencial, centrifugación por gradiente de densidad, cromatografía de columnas y electroforesis.

Por lo regular, se necesita más de un paso para conseguir la purificación adecuada. La purificación preliminar elimina la mayor parte de material no viral. El primer paso puede incluir la centrifugación; el paso final de purificación casi siempre incluye centrifugación por gradiente de densidad. En la centrifugación por tasa zonal, se aplica una muestra de virus concentrados en un gradiente de densidad lineal preestablecido en sacarosa o glicerol; durante la centrifugación los virus se sedimentan en forma de una banda a una tasa que depende principalmente de la densidad de la partícula del virus.

Los virus también pueden purificarse por centrifugación de alta velocidad en gradiente de densidad en cloruro de cesio, tartrato de potasio, citrato de potasio o sacarosa. El material elegido para el gradiente es uno de los menos tóxicos para el virus. Las partículas virales migran hacia una posición de

equilibrio donde la densidad de la solución sea igual a su densidad boyante, con la formación de una banda visible.

Algunos métodos adicionales para la purificación se basan en las propiedades químicas de la superficie viral. En la cromatografía de columna, el virus se une a una sustancia como dietilaminoetilo o fosfocelulosa y más tarde se despega por cambios en el pH o en la concentración de sales. La electroforesis de zona permite la separación de las partículas virales de los contaminantes con base en la carga. Pueden utilizarse antisueros específicos para eliminar partículas virales de los materiales del hospedador.

Los virus icosaédricos son más fáciles de purificar que los virus con envoltura, porque estos últimos a menudo contienen cantidades variables de envoltura por partícula y porque la población viral es heterogénea tanto en tamaño como en densidad.

Es muy difícil lograr la pureza completa de los virus. Pequeñas cantidades de material celular tienden a adsorberse a partículas y se purifican de manera simultánea. Los criterios mínimos para la pureza son un aspecto homogéneo en las micrografías electrónicas y la incapacidad de procedimientos de purificación adicional para eliminar “contaminantes” sin reducir la capacidad de producir infecciones.

Identificación de una partícula como virus

Cuando se ha obtenido una partícula con características físicas, debe satisfacer los criterios siguientes antes de que sea identificada como partícula viral:

1. La partícula puede obtenerse sólo de tres células o tejidos infectados.
2. Las partículas conseguidas de diversas fuentes son idénticas sin importar el origen celular en los cuales se cultivó el virus.
3. Las partículas contienen ácidos nucleicos (DNA o RNA) y la secuencia de tales ácidos no es la misma que la de las células hospedadoras, a partir de las cuales se obtuvieron las partículas.
4. El grado de actividad infecciosa de la preparación varía directamente con el número de partículas presentes.
5. La destrucción de la partícula física por medios químicos o físicos se vincula con pérdida de la actividad viral.
6. Ciertas propiedades de las partículas y la infectividad deben ser idénticas, por ejemplo, su conducta de sedimentación en la ultracentrifugación y las curvas de estabilidad al pH.
7. Los antisueros preparados contra el virus infeccioso deben producir una reacción con la partícula característica y viceversa. La observación directa de un virus desconocido puede llevarse a cabo mediante estudio con microscopia electrónica de la formación de agregados en una mezcla de antisuero y suspensión de virus.
8. Las partículas son capaces de producir la enfermedad característica *in vivo* (cuando tales experimentos sean factibles).
9. El paso de partículas en cultivos de tejidos debe ocasionar la producción de progenie con propiedades biológicas y antigénicas de virus.

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Muchos virus son patógenos para los seres humanos y pueden ocurrir infecciones adquiridas en el laboratorio. Los procedimientos de laboratorio a menudo son potencialmente peligrosos si no se sigue la técnica apropiada. Entre los peligros comunes que exponen al personal de laboratorio al riesgo de infección se encuentran: 1) aerosoles, generados por la homogeneización de tejidos infectados, procedimientos de centrifugación, vibración ultrasónica y rotura de cristalería; 2) ingestión: durante la manipulación de pipetas con la boca, consumo de alimentos o fumar en el laboratorio, lavado inadecuado de manos; 3) penetración cutánea por agujas, cristalería rota, contaminación de manos por fuga de los contenedores, manipulación de tejidos infectados, mordeduras por animales y 4) salpicaduras en los ojos.

Entre las prácticas adecuadas de bioseguridad están las siguientes: 1) entrenamiento en técnicas asépticas y empleo de las mismas; 2) no comer, beber, ni aspirar pipetas con la boca o fumar en el laboratorio; 3) empleo de equipo personal de protección (como batas, guantes y mascarillas) que no deberán usarse fuera del laboratorio; 4) esterilización de los desechos experimentales; 5) empleo de cascos de bioseguridad, y 6) vacunación si se cuenta con las vacunas importantes. Se necesitan precauciones adicionales e instalaciones especiales de almacenamiento y contención (nivel 4 de bioseguridad) si el personal se ocupa de investigaciones con partículas de alto riesgo como los filovirus (capítulo 38) y el virus de la rabia (capítulo 42).

REACCIÓN A AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Calor y frío

Se observa enorme variabilidad en la estabilidad de diferentes virus al calor. Las partículas icosahédricas tienden a ser estables y es poca la infectividad que pierden después de algunas horas a 37 °C. Los virus con envoltura tienen un carácter más termoestable y su número disminuye con rapidez a 37 °C. La infecciosidad viral por lo común se destruye al calentarlo a 50 a 60 °C durante 30 min, aunque se conocen excepciones notables (como los virus de hepatitis B o de polioma).

Los virus se pueden conservar en almacenamiento a temperaturas menores de las de congelación y algunos pueden soportar la liofilización y conservarse en estado seco a 4 °C o incluso a temperatura ambiente. Los virus con cubierta tienden a perder infecciosidad después de almacenamiento duradero incluso a —90 °C y son particularmente sensibles al congelamiento y descongelamiento repetidos.

Estabilización de los virus por medio de sales

Muchos virus se estabilizan por medio de sales, para así resistir la inactivación calórica que es importante en la preparación de vacunas. La vacuna corriente de poliomielitis de tipo oral no estabilizada debe ser almacenada a temperaturas de congelación para conservar su potencia. Sin embargo, con la adición

de sales para estabilizar el virus la potencia se conserva durante semanas a temperatura ambiente, incluso en las que privan en los trópicos, que son más altas de las del promedio.

pH

Por lo común los virus son estables entre cifras de pH de 5.0 y 9.0. Algunas partículas (como los enterovirus) son resistentes a un entorno ácido. Todos los virus son destruidos en un entorno alcalino. Las reacciones de hemaglutinación son muy sensibles a los cambios en el pH.

Radiación

La radiación ultravioleta, de rayos X y con partículas de alta energía inactivan a los virus. Las dosis varían para los diferentes virus. La infectividad es la propiedad más radiosensible porque la replicación requiere la expresión de la totalidad del contenido genético. Las partículas radiadas que son incapaces de replicarse pueden expresar algunas funciones específicas en la célula del hospedador.

Susceptibilidad al éter

Ésta puede utilizarse para diferenciar a los virus que poseen una envoltura de aquellos que no la poseen. En el cuadro 29-1, se muestra la sensibilidad al éter de diferentes grupos de virus.

Detergentes

Los detergentes no iónicos (p. ej., nonilfenoxilpolietoxiletanol y octoxinol-9) solubilizan los componentes lipídicos de las membranas virales. Las proteínas virales de la envoltura se liberan (sin desnaturalización). Los detergentes aniónicos, por ejemplo, dodecil sulfato de sodio, también solubilizan las envolturas virales; además, pueden romper las cápsides en polipéptidos separados.

Formaldehído

Éste destruye la infectividad viral al reaccionar con los ácidos nucleicos. Los virus con genomas monocatenarios sufren inactivación con mucha mayor rapidez que los bicatenarios. El formaldehído tiene mínimos efectos adversos en la antigenicidad de proteínas y, por lo tanto, se utiliza con frecuencia en la producción de vacunas de virus desactivados.

Inactivación fotodinámica

Los virus pueden ser penetrados en grados variables por colorantes, como el azul de toluidina, el rojo neutro y la proflavina. Tales colorantes se unen a los ácidos nucleicos virales y el virus se vuelve susceptible a la inactivación por acción de la luz visible.

Antibióticos y antineoplásicos

Los antibióticos y las sulfonamidas no tienen efectos en los virus. Sin embargo, se cuenta con algunos fármacos antivirales (capítulo 30).

Algunos desinfectantes como los de amonio cuaternario y yodo orgánico no son eficaces contra virus. Para destruir virus, se necesitan concentraciones más altas de cloro que las necesarias para destruir bacterias, en especial en presencia de proteínas extrañas. Por ejemplo, el tratamiento con cloro de las heces es adecuado para desactivar los bacilos de la tifoidea, pero es inadecuado para eliminar el virus de la poliomielitis presente en heces. Los alcoholes, como el isopropanol y el etanol, son relativamente ineficaces contra ciertos virus, en especial picornavirus.

Métodos frecuentes para la inactivación de virus con diversos propósitos

Los virus pueden desactivarse por varias razones: para esterilizar equipo y suministros de laboratorio, desinfectar superficies cutáneas, potabilizar el agua y producir vacunas de virus desactivados. Con estos propósitos, se utilizan diferentes métodos y sustancias químicas.

La esterilización puede lograrse con vapor a presión, calor seco, óxido de etileno y radiación de rayos γ. Los desinfectantes de superficies incluyen hipoclorito de sodio, glutaraldehído, formaldehído y ácido peracético. Los desinfectantes cutáneos incluyen clorhexidina, etanol al 70% y yodóforos. La producción de vacunas puede incluir el uso de formaldehído, propiolactona-β, psoralenos + radiación ultravioleta o detergentes (subunidades de vacunas) para la desactivación de virus vacunales.

REPLICACIÓN DEL VIRUS: GENERALIDADES

Los virus se multiplican sólo en células vivas. Las células del hospedador deben proporcionar la energía y la maquinaria de síntesis, así como los precursores de bajo peso molecular para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos virales. El ácido nucleico viral contiene, en una forma altamente organizada, la información genética para la síntesis de todas las macromoléculas específicas del virus.

A fin de que se pueda replicar el virus, deben sintetizarse las proteínas virales por la maquinaria de síntesis de proteínas de la célula hospedadora. Por lo tanto, el genoma viral debe ser capaz de producir mRNA que pueda utilizarse. Se han identificado varios mecanismos que permiten que el mRNA viral compita con éxito con el mRNA celular para generar cantidades adecuadas de proteínas virales.

La característica singular de la multiplicación viral es que, poco después de la interacción con las células hospedadoras, el virión infectante se desintegra y se pierde su capacidad infecciosa mensurable. Esta fase del ciclo celular se denomina **periodo de eclipse**; su duración depende del virus en particular y de la célula hospedadora y se continúa por un intervalo de acumulación rápida de una progenie de partículas virales infecciosas. El periodo de eclipse es en realidad una de las fases de actividad de síntesis más intensa porque la célula se redirecciona para satisfacer las necesidades del parásito viral. En algunos casos, poco después de que el ácido nucleico penetra a la célula hospedadora, el metabolismo celular se dirige exclusivamente a la síntesis de nuevas partículas virales y la célula se destruye. En otros casos, el proceso metabólico de la célula hospedadora no se altera de manera importante, aunque la célula

produzca proteínas y ácidos nucleicos virales y las células no sufran destrucción.

Después de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas virales, se ensamblan los componentes para dar origen a nuevos viriones infecciosos. La producción de virus infecciosos por célula varía ampliamente, desde cifras moderadas hasta más de 100 000 partículas. La duración del ciclo de replicación viral es muy variable, de 6 a 8 h (picornavirus) a más de 40 h (algunos herpesvirus).

No todas las infecciones dan origen a una nueva progenie de virus. Las infecciones **productivas** ocurren en células **permisivas** y dan origen a la producción de virus infecciosos. Las infecciones **abortivas** no originan una descendencia infecciosa, porque las células pueden ser **no permisivas** e incapaces de sostener la expresión de genes virales o porque los virus infecciosos quizás estén **defectuosos** por la carencia de algún gen viral funcional. Puede sobrevenir una infección **latente**, con la persistencia de genomas virales con la expresión de

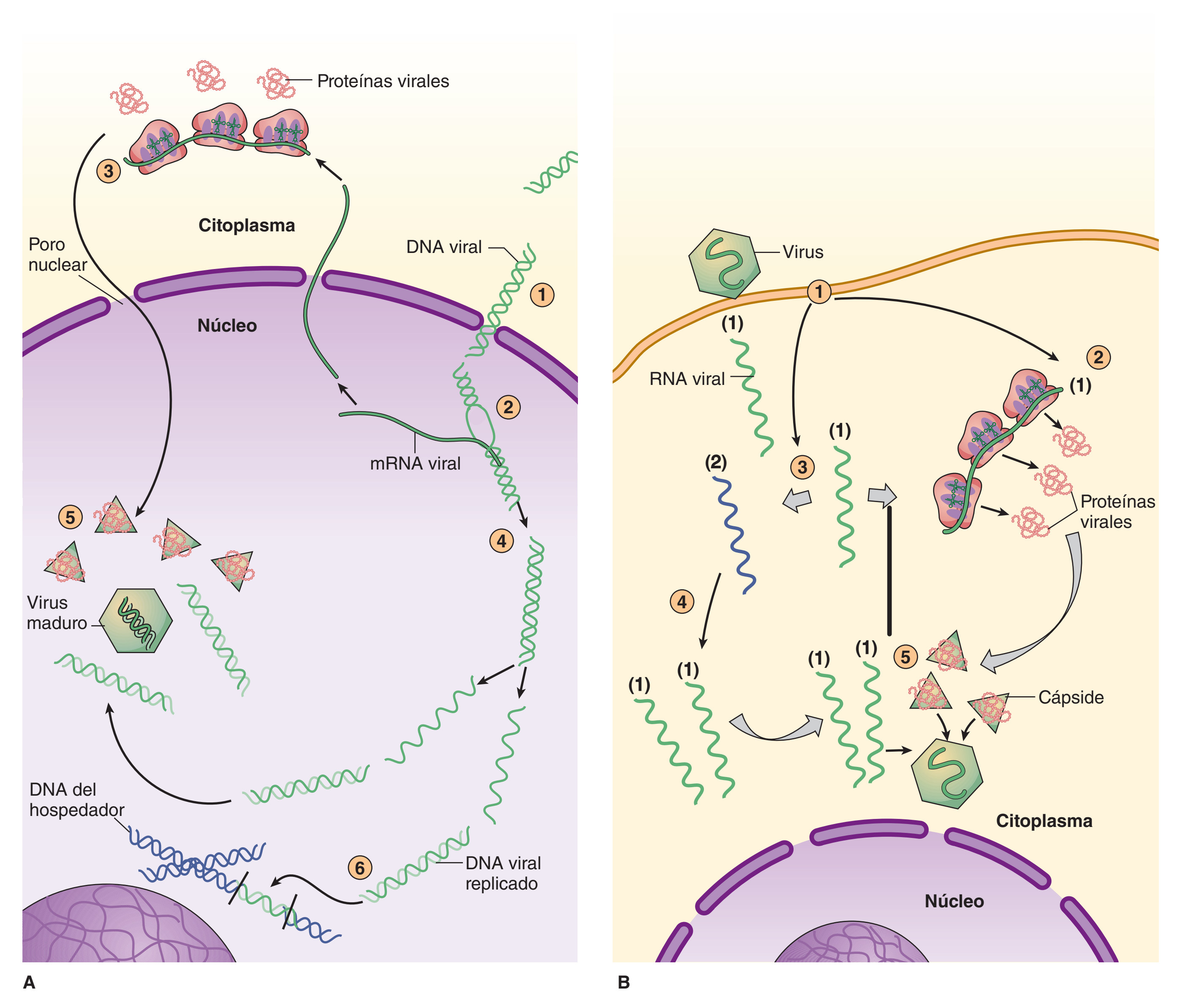


FIGURA 29-5 Ejemplos de ciclos de proliferación viral. **A:** En este ejemplo, en el núcleo se suceden múltiples fases del ciclo de replicación. 1) Después de penetrar en la célula hospedadora, se desprende el DNA viral y entra en el núcleo; 2) se efectúa la transcripción de los genes virales; 3) los mRNA son "traducidos" en el citoplasma. Las proteínas recién sintetizadas penetran en el núcleo; 4) el DNA viral muestra replicación en el núcleo, a veces con el auxilio de proteínas recién sintetizadas para la replicación viral; 5) el DNA viral y las proteínas estructurales virales se ensamblan en el núcleo para producir viriones hijos nuevos y 6) en contadas ocasiones se puede incorporar el DNA viral al DNA celular como un "efecto complementario" de la infección. **B:** Ciclo de proliferación de un RNA virus monocatenario, de orientación catenaria positiva. En este ejemplo, el ciclo de replicación acaece en el citoplasma. 1) El virus penetra en la célula y se desprende el genoma de RNA que le es propio; 2) el RNA, en la forma de un genoma monocatenario con orientación positiva catenaria es traducido directamente y así genera proteínas virales; 3) se sintetiza una copia de RNA con sentido catenario negativo de la plantilla positiva; 4) la copia es usada para producir muchas copias con sentido catenario positivo; 5) las moléculas de RNA de sentido positivo recién sintetizadas son ensambladas en proteínas estructurales virales para generar nuevos viriones hijos. (Con autorización de Tlaro KP: *Foundation in Microbiology: Basic Principles*, 6a. ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

pocos genes virales o ninguno y la supervivencia de la célula infectada. El patrón de replicación puede variar para un virus dado, lo cual depende del tipo de célula hospedadora infectada.

Etapas generales en los ciclos de replicación viral

Han surgido diversas estrategias virales para conseguir la multiplicación de la célula hospedadora parasitada. Aunque los detalles varían de un grupo a otro, en general, el ciclo de replicación es similar. Los ciclos de crecimiento para los DNA virus bicatenario y para los de RNA monocatenarios de sentido positivo se esquematizan en la figura 29-5. En los siguientes capítulos, se muestran detalles dirigidos a grupos virales específicos.

A. Unión, penetración y pérdida de la envoltura

El primer paso en la infección viral es la **unión**, es decir, la interacción del virión con un sitio receptor específico en la superficie de la célula. Las moléculas receptoras difieren para los distintos virus, pero en general son glucoproteínas. En algunos casos, los virus se unen a secuencias proteínicas (p. ej., picornavirus) y, en otros casos, con oligosacáridos (p. ej., ortomixovirus y paramixovirus). La presencia o la ausencia de receptores desempeña una función determinante en el tropismo celular y en la patogenia del virus. No todas las células en un hospedador susceptible expresan los receptores necesarios; por ejemplo, el poliovirus es capaz de unirse sólo a las células del sistema nervioso central (SNC) y del tubo digestivo de primates. Cada célula susceptible puede contener hasta 100 000 sitios receptores para un virus dado.

Después de la unión, la partícula viral se introduce al interior de la célula, etapa que se conoce como **penetración** o englobamiento. En algunos sistemas, esto se logra por endocitosis mediada por receptores, con la captación de partículas virales ingeridas en el interior de endosomas. Existen ejemplos de penetración directa de partículas virales a través de la membrana plasmática. En otros casos, hay fusión de la envoltura del virión con la membrana plasmática celular. Esos sistemas implican la interacción de las proteínas de función viral con un segundo receptor celular o correceptor.

La **pérdida de la envoltura** ocurre de forma simultánea o poco después de la penetración. La pérdida de la envoltura consiste en la separación física del ácido nucleico viral de los componentes estructurales externos del virión de modo que pueda cumplir con su función. El genoma puede liberarse en forma de ácido nucleico libre (picornavirus) o como nucleocápside (reovirus). La nucleocápside por lo común contiene polimerasas. Para la pérdida de la envoltura quizá sea necesario un entorno ácido que se encuentra presente en el interior del endosoma. La infectividad del virus original se pierde al ya no tener la envoltura. Los virus son los únicos agentes infecciosos para los cuales la desintegración del agente infeccioso es un paso obligado en la vía de replicación.

B. Expresión de los genomas virales y síntesis de componentes virales

La fase de síntesis del ciclo de replicación viral sobreviene después de la pérdida de la envoltura del genoma viral. El tema esencial en la replicación viral es que debe transcribirse un mRNA específico a partir de ácido nucleico viral para la expresión exitosa y la duplicación de la información genética. Después que esto se consigue, los virus utilizan componentes celulares para la traducción del mRNA. Diferentes clases de virus usan diversas vías para la síntesis de mRNA, lo cual depende de la estructura del ácido nucleico viral. En el cuadro 29-2, se resumen diversas vías de transcripción (no necesariamente de replicación) de los ácidos nucleicos de diferentes clases de virus. Algunos virus (p. ej., rabdovirus) portan RNA polimerasa para la síntesis de mRNA. Los RNA virus de este tipo se denominan virus de cadena negativa (sentido negativo) porque su genoma de RNA monocatenario es complementario al mRNA, el cual se designa de modo convencional como cadena positiva (sentido positivo). Los virus de cadena negativa pueden contar con su propia RNA polimerasa, porque la células eucariotas carecen de enzimas capaces de sintetizar mRNA a partir de una plantilla de RNA.

CUADRO 29-2 **Vías para la transcripción de ácido nucleico para varios virus clásicos**

Tipo de ácido nucleico viral	Intermediarios	Tipo de mRNA	Ejemplo	Comentarios
± ds DNA	Ninguno	+ mRNA	La mayor parte de los DNA virus (p. ej., herpesvirus, adenovirus)	
+ ss DNA	± ds DNA	+ mRNA	Parvovirus	
± ds RNA	Ninguno	+ mRNA	Reovirus	El virión contiene RNA polimerasa que transcribe cada segmento a mRNA
+ ss RNA	± ds RNA	+ mRNA	Picornavirus, togavirus, flavivirus	El ácido nucleico viral es infeccioso y actúa como el mRNA. Para togavirus, el + mRNA más pequeño también se forma para ciertas proteínas
- ss RNA	Ninguno	+ mRNA	Rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus	El ácido nucleico viral no es infeccioso; el virión contiene RNA polimerasa que forma + mRNA más pequeño que el genoma. Para los ortomixovirus, el + mRNA se transcribe a partir de cada segmento
+ ss RNA	+DNA, ±DNA	+mRNA	Retrovirus	El virión contiene transcriptasa inversa; el RNA viral no es infeccioso, pero el DNA complementario a partir de la célula transformada lo es

–, cadena negativa; +, cadena positiva; ±, la hélice contiene una cadena positiva y una negativa; ds, bicatenario; ss, monocatenario.

En el curso de la replicación de los virus, todas las macromoléculas específicas de virus se sintetizan en una secuencia muy organizada. En algunas infecciones virales, sobre todo en aquéllas con virus que contienen DNA bicatenario, las proteínas virales iniciales se sintetizan poco después de la infección en tanto que las proteínas tardías se elaboran con etapas avanzadas de la infección, después de la síntesis del DNA viral. Los genes iniciales quizá no se desactiven cuando se elaboran los productos tardíos. Por el contrario, la mayor parte o toda la información genética de los virus que contienen RNA se expresa al mismo tiempo. Además de estos controles temporales, existen controles cuantitativos, porque no todas las proteínas virales se elaboran en la misma cantidad. Las proteínas virales específicas pueden regular la extensión de la transcripción del genoma o la traducción del mRNA viral.

Los virus animales pequeños y los bacteriófagos son buenos modelos para estudios de expresión de genes. Las secuencias totales de nucleótidos de muchos virus deben dilucidarse. Esto condujo al descubrimiento de genes sobrepuestos en algunas secuencias en el DNA que se utilizan para la síntesis de dos péptidos diferentes, ya sea con el uso de dos marcos de lectura diferentes o por dos moléculas de mRNA que utilizan el mismo marco de lectura, pero diferentes puntos de inicio. Un sistema viral (adenovirus) reveló por primera vez el fenómeno de procesamiento de mRNA que se denomina “empalme”, en el cual las secuencias de mRNA que codifican una proteína dada se generan a partir de secuencias separadas en la plantilla, con secuencias no codificantes que son eliminadas del transcrito. En fecha reciente, se encontró que varios DNA virus (herpesvirus, poliomavirus) codificaban microRNA; estos RNA pequeños (alrededor de 22 nucleótidos) funcionan como un nuevo nivel de regulación de genes postranscripcionales, ya sea mediante la degradación del mRNA al que va dirigido o al inducir la inhibición de la traducción de dichos mRNA.

La variación más amplia en las estrategias de expresión génica se encuentra entre los virus que contienen RNA (cuadro 29-3). Algunos viriones portan polimerasas (ortomixovirus, reovirus); ciertos sistemas utilizan mensajes subgenómicos, que en ocasiones son generados por empalme (ortomixovirus, retrovirus) y algunos virus sintetizan grandes precursores poliproteínicos que son procesados y desdoblados para generar los productos génicos finales (picornavirus, retrovirus). En el caso del virus del VIH se necesita para dicha función la proteasa del virus, porque lo faculta para ser el punto en que actúen los fármacos inhibidores de dicha enzima.

El grado en el cual las enzimas virales específicas participan en estos procesos varía de un grupo a otro. Los DNA virus que se replican en el núcleo por lo general utilizan DNA y RNA polimerasas y las enzimas para el procesamiento de la célula hospedadora. Los virus más grandes (herpesvirus, poxvirus) son más independientes de las funciones celulares que los virus más pequeños. Esta es una de las razones por la cual los virus grandes son más susceptibles a la quimioterapia antiviral (capítulo 30), porque más procesos virales específicos están disponibles como objetivo para la acción farmacológica.

Los sitios intracelulares donde toman lugar los diferentes eventos en la replicación viral varían de un grupo a otro (cuadro 29-4). Es posible realizar pocas generalizaciones. Las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma en polirribosomas compuestos por el mRNA viral específico y ribosomas de las células del hospedador. Muchas proteínas virales sufren modificaciones (glucosilación, acilación, desdoblamiento, etc.). El DNA viral casi siempre se replica en el núcleo. El RNA del genoma viral suele duplicarse en el citoplasma de la célula, aunque hay excepciones.

C. Morfogénesis y liberación

Los genomas virales recién sintetizados y los polipéptidos de la cápside se ensamblan para dar origen a la progenie de los virus. Las cápsides icosaédricas pueden condensarse en ausencia de ácido nucleico, en tanto que las de virus con simetría helicoidal no pueden formarse sin el RNA viral. En general, los virus sin envoltura se acumulan en las células infectadas y las células al final se destruyen y liberan partículas virales.

CUADRO 29-3 Comparación de las estrategias de replicación de varias familias de RNA virus importantes

	Agrupamiento con base en el RNA genómico[a]					
	Virus de cadena positiva			Virus de cadena negativa		Virus bicatenario
Características	Picornaviridae	Togaviridae	Retroviridae	Orthomyxoviridae	Paramyxoviridae y Rhabdoviridae	Reoviridae
Estructura del RNA genómico	ss	ss	ss	ss	ss	ds
Sentido del RNA genómico	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
Genoma segmentado	0	0	0[b]	+	0	+
RNA genómico infeccioso	+	+	0	0	0	0
El RNA genómico actúa como mensajero	+	+	+	0	0	0
Polimerasa relacionada con el virión	0	0	+[c]	+	+	+
Mensajes subgenómicos	0	+	+	+	+	+
Poliproteínas precursoras	+	+	+	0	0	0

[a] +, la propiedad indicada aplica a la familia de virus; 0, indica que la propiedad no aplica a dicha familia de virus; ds, bicatenario; negativa, complementaria al mRNA; positiva, el mismo sentido que mRNA; ss, monocatenario.
[b] Los retrovirus contienen genoma diploide (dos copias de RNA genómico no segmentado).
[c] Los retrovirus contienen una transcriptasa inversa (DNA polimerasa dependiente de RNA).

CUADRO 29-4 Resumen de los ciclos de replicación de las principales familias de virus

Familia de virus	Presencia de virión envuelto	Ubicación intracelular: Replicación del genoma	Ubicación intracelular: Formación de nucleocápside[a]	Ubicación intracelular: Maduración del virión	Ciclo de multiplicación (horas)[b]
DNA virus					
Pravoviridae	0	N	N	N	
Polyomaviridae	0	N	N	N	48
Adenoviridae	0	N	N	N	25
Hepadnaviridae	+	N	C	M–E	
Herpesviridae	+	N	N	M	15 a 72
Poxviridae	0	C	C	C	20
RNA virus					
Picornaviridae	0	C	C	C	6 a 8
Reoviridae	0	C	C	C	15
Togaviridae	+	C	C	M–P	10 a 24
Flaviviridae	+	C	C	M–E	
Retroviridae	+	N	C	M–P	
Bunyaviridae	+	C	C	M–G	24
Orthomyxoviridae	+	N	N	M–P	15 a 30
Paramyxoviridae	+	C	C	M–P	10 a 48
Rhabdoviridae	+	C	C	M–P	6 a 10

[a] La síntesis de proteínas virales siempre ocurre en el citoplasma.

[b] Las cifras que muestran la duración del ciclo de multiplicación son aproximadas; los intervalos indican que varios miembros en una familia dada se replican con cinética diferente. Los diferentes tipos celulares del hospedador también influyen en la cinética de la replicación viral.

C, citoplasma; M, membranas; M-E, membranas del retículo endoplásmico; M-G, membranas del aparato de Golgi; M-P, membranas plasmáticas; N, núcleo.

Los virus envueltos maduran por un proceso de gemación. Las glucoproteínas de la envoltura codificadas por los virus se insertan en las membranas celulares; las nucleocápsides virales forman yemas a través de la membrana y en estos sitios modificados adquieren una envoltura. Con frecuencia ocurre gemación al nivel de la membrana plasmática, pero también pueden participar otras membranas celulares. Los virus envueltos no son infecciosos hasta que han adquirido su envoltura. Por lo tanto, la progenie de virus infecciosos casi nunca se acumula en el interior de la célula infectada.

La maduración viral en ocasiones es un proceso ineficaz. Pueden acumularse componentes virales en cantidades excesivas y dar origen a la formación de cuerpos de inclusión en la célula. Como consecuencia de los profundos efectos nocivos de la replicación viral, finalmente surgen efectos citopáticos y la célula muere. Sin embargo, en ocasiones las células no se dañan por acción de los virus y surgen infecciones persistentes a largo plazo (capítulo 30). Los mecanismos inducidos por los virus pueden regular la apoptosis, un fenómeno programado genéticamente que permite la autodestrucción de las células. Algunas infecciones virales retrasan la apoptosis inmediata, lo cual da tiempo para la producción de grandes cantidades de progenie de virus. Además, algunos virus inducen la apoptosis de manera activa en etapas avanzadas; esto facilita la diseminación de la progenie de virus a nuevas células.

GENÉTICA DE LOS VIRUS ANIMALES

El análisis genético es un método poderoso dirigido a la comprensión de la estructura y la función del genoma viral, productos génicos y su participación en la infección y la enfermedad. Las variantes virales surgen a veces de manera natural, con cambios en las propiedades biológicas causados por mutaciones genéticas. La variación en las propiedades virales es de gran importancia para la medicina de seres humanos. Los virus que tienen antígenos estables en su superficie (poliovirus, virus del sarampión) pueden controlarse con vacunación. Otros virus que existen con diversos tipos antigénicos (rinovirus) o que cambian con frecuencia (virus de la gripe A) son difíciles de controlar por vacunación; la genética viral puede ayudar a crear vacunas más eficaces. Algunos tipos de infecciones virales recurren de manera repetitiva (virus de parainfluenza) o producen infecciones persistentes (retrovirus) en presencia de anticuerpos y pueden controlarse mejor con fármacos antivirales. El análisis genético puede ayudar a identificar procesos virales específicos que pueden ser sitios de acción apropiados para el desarrollo de tratamientos antivirales.

Los términos siguientes son básicos para el análisis de los aspectos genéticos: el **genotipo** se refiere la constitución genética de un organismo. El **fenotipo** se refiere a las propiedades observables de un organismo, que puede ser producido por el

genotipo en combinación con el medio ambiente. Una **mutación** es un cambio hereditario en el genotipo. El **genoma** es la suma de genes de un organismo y un **virus natural** denota el virus original a partir del cual se derivaron mutantes y con el cual se comparan dichos mutantes; el término tal vez no describa con precisión al virus, como el que se encuentra aislado en estado natural. Los aislados frescos de virus de hospedadores naturales se conocen como virus **aislados de campo** o **aislados primarios**.

Cartografía (mapeo) de genomas virales

Las técnicas rápidas y precisas de biología molecular han facilitado la identificación de los productos génicos virales y han permitido el mapeo de éstos en el genoma viral. Es posible hacer un mapeo bioquímico, genético y físico por medio de técnicas clásicas. Para el mapeo de genomas virales, filogenia comparativa y declaración de propiedades activas con frecuencia se utilizan el análisis y la comparación de secuencias con virus conocidos.

Es posible utilizar endonucleasas de restricción para la identificación de cepas específicas de DNA virus. El DNA viral se aísla y se incuba con una endonucleasa específica hasta que sufren desdoblamiento las secuencias de DNA susceptibles a la nucleasa. Los fragmentos se identifican con base en el tamaño de la electroforesis en gel. Los fragmentos más grandes presentan mayor retraso por el efecto de tamiz del gel, de forma que existe una relación inversa entre el tamaño y la migración observada.

Los mapas físicos pueden correlacionarse con los mapas genéticos. Esto permite que los productos génicos virales se mapeen a regiones individuales del genoma, que fue definido por fragmentos de restricción enzimática. La transcripción de mRNA mediante el ciclo de replicación puede asignarse a fragmentos específicos de DNA. Con el uso de mutagénesis es posible introducir mutaciones en sitios definidos del genoma para análisis funcionales.

Tipos de virus mutantes

Los mutantes letales condicionados constituyen mutantes que son letales (entre los cuales no se producen virus infecciosos) bajo una condición predeterminada (denominada **condiciones no permisivas**), pero que dan origen a progenie infecciosa normal en otras situaciones (denominada **condición permisiva**). Los mutantes sensibles a la temperatura proliferan a bajas temperaturas (permisivas), pero no a altas temperaturas (no permisivas). Los mutantes de un solo hospedador son capaces de crecer en un tipo de célula (célula permisiva), en tanto que ocurre una infección abortiva en otro tipo celular (célula no permisiva). Los estudios de infección mixta con pares de mutantes en situaciones permisivas y no permisivas pueden dar información respecto a las funciones del gen y los mecanismos de replicación viral a nivel molecular.

Virus defectuosos

Los virus defectuosos son aquellos que carecen de uno o más genes funcionales necesarios para la replicación viral; requieren actividad auxiliar de otro virus en algunas etapas de su replicación o maduración.

Un tipo de virus defectuoso carece de una porción de su genoma (p. ej., deleción mutante). El grado de pérdida por deleción puede variar desde una secuencia corta de bases a una gran cantidad del genoma. Los mutantes con deleción espontánea pueden interferir con la replicación de virus homólogos y se denominan **partículas de interferencia viral defectuosas**. Las partículas con interferencia viral han perdido en esencia segmentos de genoma, pero contienen proteínas normales de la cápside; requieren infección por un virus homólogo como auxiliador para la replicación e interfieren con la multiplicación del virus homólogo.

Otra categoría de virus defectuoso requiere un virus competente con una replicación no relacionada como colaborador. Algunos ejemplos incluyen los virus satélite adenorrelacionados y el virus de la hepatitis D (agente Delta), que se replica sólo en presencia de adenovirus o virus de la hepatitis B coinfectantes, respectivamente.

Los seudoviriones son un tipo diferente de partícula defectuosa que contiene DNA de la célula hospedadora en lugar de genoma viral. Durante la replicación viral, la cápside en ocasiones rodea porciones aleatorias de ácido nucleico del hospedador en lugar del ácido nucleico del virus. Tales partículas tienen el aspecto de partículas virales ordinarias cuando se observan con microscopia electrónica, pero no pueden replicarse. Los seudoviriones en teoría tienen la capacidad de transducir ácido nucleico celular de una célula a otra.

Los retrovirus de transformación suelen ser defectuosos. Una porción del genoma viral ha sufrido deleción y ha sido sustituida por una parte del DNA de la célula original que codifica una proteína de transformación. Tales virus permiten la identificación de oncogenes celulares (capítulo 43). Es necesario otro retrovirus como auxiliador a fin de permitir la replicación del virus transformado.

Interacciones entre virus

Cuando dos o más partículas virales infectan la misma célula hospedadora, pueden interactuar en diversas maneras. Deben tener una relación suficientemente estrecha y por lo común pertenecen a la misma familia de virus para que ocurra la mayor parte de tipos de interacciones. La interacción genética da origen a cierta progenie que puede tener una herencia diferente a la de la partícula original. La progenie generada como consecuencia de esta interacción no genética es similar a la de los virus que le dieron origen.

A. Recombinación

La recombinación da origen a la producción de progenie viral (recombinante) que cuenta con rasgos que no se encuentran en las partículas que le dieron origen. El mecanismo clásico es que las cadenas de ácido nucleico se rompen y parte del genoma de una partícula viral se une con otra región del genoma del segundo virus. El virus recombinante es estable desde el punto de vista genético y da origen a una progenie durante la replicación. Los virus muestran enorme variación en la presencia con la cual experimentan recombinación. En el caso particular de virus con genomas segmentados (como el virus de gripe),

apter 29_Carroll_4R.indd 415 14/04/16

la formación de recombinantes es causada por **reordenación** de fragmentos del genoma individuales en la multiplicación de células infectadas, y no por medio de un fenómeno de entrecruzamiento real, y se presenta con facilidad (capítulo 39).

B. Complementación

Ésta se refiere a la interacción de productos génicos virales en la célula infectada con dos virus, uno o ambos de los cuales puede ser defectuoso. Esto tiene como consecuencia la replicación de uno o ambas partículas virales bajo las situaciones en las cuales no ocurriría replicación de forma ordinaria. Las bases para la complementación es que un virus proporciona un producto génico en el cual el segundo es defectuoso, lo cual permite la proliferación del segundo virus. Los genotipos de los dos virus permanecen sin cambio.

C. Mezcla fenotípica

Un caso especial de complementación es la mezcla fenotípica o la asociación de un genotipo con un fenotipo heterólogo. Esto ocurre cuando el genoma de un virus se incorpora al azar a las proteínas de la cápside especificadas por un virus diferente o la cápside consiste en componentes de ambos virus. Si el genoma es encapsulado en una cubierta proteína heteróloga complementaria, este ejemplo extremo de mezcla fenotípica puede denominarse "ocultamiento fenotípico" o "transcapsidación". La mezcla anterior no constituye un cambio genético estable, porque con la replicación el virus original de la mezcla fenotípica dará origen a partículas hijas con cápside derivadas de su genoma.

La mezcla fenotípica casi siempre se presenta entre diferentes miembros de la misma familia de virus; la cápside con proteínas mezcladas debe ser capaz de interactuar de forma correcta para dar origen a una cápside intacta desde el punto de vista estructural. Sin embargo, también puede ocurrir mezcla fenotípica en virus con envoltura y en este caso los virus no tienen relación estrecha. La nucleocápside de un virus es rodeada por una cubierta específica para otro virus, un fenómeno denominado "formación de seudotipo". Hay muchos ejemplos de formación de seudotipo entre RNA virus tumorales (capítulo 43). La nucleocápside del virus de la estomatitis vesicular, un rabdovirus, tiene la propensión poco común de formar seudotipos con material de envoltura no relacionado.

D. Interferencia

La infección en cultivos celulares o en animales enteros con dos virus a menudo da origen a la inhibición de la multiplicación de uno de los virus, un efecto conocido como interferencia. En animales, la interferencia es diferente de la inmunidad específica. Además, la interferencia no ocurre con todas las combinaciones de virus; los virus pueden infectar y multiplicarse en la misma célula con la idéntica eficiencia que en casos de infecciones aisladas.

Se han dilucidado varios mecanismos como causas de interferencia: 1) un virus puede inhibir la capacidad del segundo para unirse a la célula, ya sea al bloquear sus receptores (retrovirus, enterovirus) o al destruir sus receptores (ortomixovirus); 2) un virus puede competir con el segundo por componentes del aparato de replicación (p. ej., polimerasa, factor de inicio de la traducción); 3) el primer virus puede ocasionar que la célula infectada produzca un inhibidor (interferón; capítulo 30) que evita la replicación del segundo virus.

Vectores de virus

La tecnología de DNA recombinante ha revolucionado la producción de materiales biológicos, hormonas, vacunas, interferón y otros productos génicos. Los genomas virales han sido objeto de ingeniería genética para servir como vectores de replicación y expresión tanto para virus como para genes celulares. Casi cualquier virus puede ser convertido a un vector si se sabe lo suficiente respecto a sus funciones de replicación, controles de transcripción y señales de empaquetamiento. La tecnología de vector viral se basa en DNA virus (p. ej., SV40, parvovirus, papilomavirus bovino, adenovirus, herpes virus, virus vaccinia) y RNA virus (p. ej., poliovirus, virus Sindbis, retrovirus). Cada sistema tiene diferentes ventajas y desventajas.

Los vectores típicos de expresión eucariota contienen elementos de regulación viral (promotores) que controlan la transcripción del gen clonado que se desea, insertado adyacente a señales para la terminación eficaz y la poliadenilación de los productos de la transcripción y una secuencia intrónica unida por sitios donadores y receptores de empalme. Tal vez haya secuencias que favorezcan la traducción o que afecten la expresión de un tipo celular en particular. Los principios de la tecnología de DNA recombinante se describen e ilustran en el capítulo 7. Este método ofrece la posibilidad de generar grandes cantidades de un antígeno puro para estudios estructurales o con el propósito de crear una vacuna.

HISTORIA NATURAL (ECOLOGÍA) Y MODOS DE TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS

La ecología es el estudio de las interacciones entre los microorganismos vivos y su entorno. Diferentes virus han evolucionado por mecanismos ingeniosos y a menudo complicados para sobrevivir en la naturaleza y para la transmisión de un hospedador a otro. El modo de transmisión utilizado por un virus dado depende de la naturaleza de las interacciones entre el virus y el hospedador.

Los virus pueden transmitirse de las siguientes maneras:

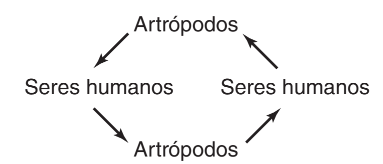
1. Transmisión directa de una persona a otra por contacto. Los medios principales de transmisión incluyen el contacto con gotitas o aerosoles (p. ej., los virus de gripe, sarampión y viruela); por contacto sexual (p. ej., papilomavirus, hepatitis B o virus de herpes simple tipo 2 o de inmunodeficiencia humana); por contacto mano-boca, mano-ojo o boca-boca (p. ej., los de herpes simple, rinovirus y virus de Epstein-Barr) o por intercambio de sangre contaminada (p. ej., los virus de hepatitis B, hepatitis C o de inmunodeficiencia humana).
2. Transmisión indirecta por vía fecal-oral (p. ej., enterovirus, rotavirus, hepatitis A infecciosa) o por fómites (p. ej., virus Norwalk, rinovirus).
3. Transmisión de un animal a otro, con los seres humanos como hospedador accidental. La diseminación puede ser

por mordeduras (rabia) o por gotas o aerosoles de roedores contaminados (p. ej., arenavirus, hantavirus).

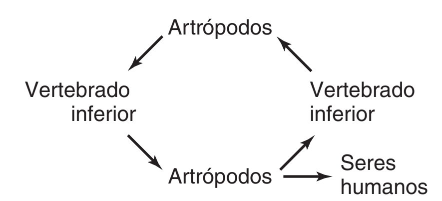
4. Transmisión por medio de un vector artrópodo (p. ej., arbovirus, ahora clasificados principalmente como togavirus, flavivirus y bunyavirus).

Se han identificado al menos tres patrones diferentes de transmisión entre los virus transportados por artrópodos:

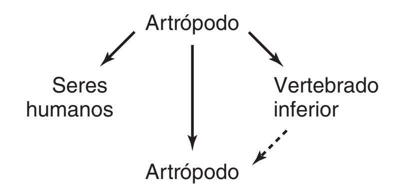
1. **Ciclo ser humano-artrópodo.** ***Ejemplos:*** fiebre amarilla urbana, dengue. El mecanismo en función se presenta en zonas densamente pobladas e infestadas por vectores competentes.



2. **Ciclo de vertebrado inferior-artrópodo con infecciones tangenciales en seres humanos.** ***Ejemplos***: fiebre amarilla selvática y encefalitis de St. Louis. Constituye un mecanismo más frecuente y los seres humanos constituyen hospedadores accidentales "finales".



3. **Ciclo artrópodo/artrópodo con infección ocasional de seres humanos y vertebrados inferiores.** ***Ejemplos:*** fiebre por garrapata de Colorado y encefalitis La Crosse.



En el ciclo anterior, es posible que el virus sea transmitido del artrópodo adulto a su descendencia por los huevos (paso transovárico); de este modo, el ciclo puede continuar con intervención de un hospedador vertebrado virémico o sin ella.

En los vertebrados, la invasión de muchos de los virus desencadena una reacción violenta aunque breve. Su resultado es decisivo. El hospedador muere o vive hasta que se generan anticuerpos que neutralizan al virus. El periodo de actividad de la partícula puede ser breve, aunque se sabe que las infecciones persistentes o latentes duran meses o años (hepatitis B, herpes simple, virus citomegálico, retrovirus). En el caso de artrópodos que son vectores del virus la relación por lo común es muy distinta. Los virus originan escaso efecto (o no lo originan) y permanecen activos dentro del artrópodo en todo su ciclo de vida natural. De ese modo, dichos invertebrados, a diferencia de los vertebrados, actúan como hospedadores y reservorios permanentes.

Enfermedades virales emergentes

Ante los cambios tan amplios las estructuras sociales, tecnológicas y del medio ambiente, además de la disminución de la eficacia de estrategias para erradicar enfermedades, en la actualidad se observa una expansión del número de enfermedades infecciosas. Se producen agentes nuevos, además de aumentar la incidencia de algunas enfermedades consideradas erradicadas, porque los patógenos evolucionan y se propagan. Estos fenómenos se han nombrado como "enfermedades infecciosas emergentes".

Las enfermedades virales emergen y siguen uno de tres perfiles generales: identificación de un agente nuevo; incremento repentino en la frecuencia de enfermedades causadas por un agente endémico e invasión de una población de nuevos hospedadores.

Las combinaciones de los factores anteriores contribuyen al desarrollo de enfermedades. Algunos factores incrementan la exposición de seres humanos a patógenos alguna vez poco conocidos; otros permiten la diseminación de infecciones que alguna vez estuvieron localizadas, y otros más obligan a cambios en las propiedades virales o respuestas del hospedador a la infección. Los factores incluyen: 1) cambios del ambiente (deforestación, construcción de presas u otros cambios en los ecosistemas hídricos, inundaciones o sequías, hambruna); 2) comportamiento humano (comportamiento sexual, consumo de drogas, recreo al aire libre); 3) fenómenos socioeconómicos y demográficos (guerra, pobreza, crecimiento poblacional y migración, deterioro urbano); 4) viajes y comercio (carreteras de alta velocidad, viajes internacionales aéreos); 5) producción de alimentos (globalización de abastos alimentarios, cambios en los métodos de preparación y empacado de alimentos); 6) atención de salud (nuevos dispositivos médicos, transfusiones de sangre, trasplante de órganos y tejidos, drogas y fármacos que ocasionan inmunodepresión, empleo muy amplio de antibióticos contra trastornos intercurrentes); 7) adaptación microbiológica (nuevas cepas de virus que surgen gracias a la mutación, recombinación o reordenamiento que ocasionan cambios en la transmisibilidad, virulencia o resistencia a fármacos), y 8) medidas de salud pública (sanidad y medidas de control de vectores, ambas inadecuadas; restricciones en programas preventivos; falta de personal entrenado, en número suficiente).

Entre los ejemplos de infecciones virales emergentes en regiones diferentes del mundo están las causadas por los virus de Ébola; de influenza aviaria; Nipah; neumopatía por hantavirus; infección por virus de inmunodeficiencia humana; dengue hemorrágico, virus del Nilo Occidental, fiebre del Valle del Rift y encefalopatía espongiforme de bovinos (esta última es una enfermedad por priones).

Un motivo de preocupación potencial incluye el posible uso de órganos de animales como xenoinjertos en seres humanos. Como el número de donadores humanos disponibles no puede satisfacer las necesidades de todos los pacientes en lista de espera, se considera como alternativa el gen o el trasplante de primates no humanos y órganos de porcinos. Existen preocupaciones respecto a la posible introducción accidental de nuevos agentes patógenos virales a partir de donadores animales a seres humanos.

Bioterrorismo

Los agentes utilizados para bioterrorismo son microorganismos (o toxinas) que pueden utilizarse para producir la muerte y la enfermedad en personas, animales o plantas con fines terroristas. Tales microorganismos pueden ser modificados genéticamente para incrementar su virulencia, hacerlos resistentes a fármacos o vacunas o incrementar su capacidad para diseminarse en el medio ambiente.

Los posibles agentes utilizados para bioterrorismo se clasifican en categorías de riesgo con base en la facilidad de diseminación o transmisión de una persona a otra, la tasa de mortalidad, la capacidad de causar pánico público y la necesidad de preparación de los sistemas de salud pública. Los agentes virales que se encuentran en la categoría de más alto riesgo incluyen la viruela y las fiebres hemorrágicas virales; las bacterias con mayor riesgo incluyen: carbunco, botulismo, peste y tularemia.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los virus son los agentes infectantes de menor tamaño, que contienen sólo un tipo de ácido nucleico (DNA o RNA).
- Los virus identificados son muy diversos y varían en cuanto a tamaño, forma y contenido genético; sólo algunos tipos tienen una cubierta lipídica.
- Los virus se clasifican en grupos, llamados familias, con base en propiedades comunes como las características morfológicas del virión, la estructura del genoma, las propiedades de la proteína viral y las estrategias de replicación.
- Los virus son parásitos intracelulares estrictos y se multiplican sólo en células vivas. El ácido nucleico viral codifica productos específicos del virus y las células del hospedador aportan energía, precursores bioquímicos y el mecanismo biosintético.
- Las fases de la replicación viral incluyen adosamiento a una célula al unirse a receptores específicos en la superficie de ella; desprendimiento del genoma viral, expresión regulada de los transcriptos virales; síntesis de proteínas del virus; replicación del ácido nucleico del genoma viral; ensamblado de nuevos virus (hijos) y liberación de viriones nuevos de la célula. La duración del ciclo de replicación varía ampliamente en diferentes tipos de virus. Las células infectadas pueden morir o sobrevivir con escaso daño. No todas las infecciones culminan en nuevos virus hijos.
- Están en fase de emerger nuevas enfermedades por virus calificadas de "enfermedades infecciosas emergentes" conforme se identifican nuevos agentes, evolucionan y se propagan los agentes identificados y se infectan nuevas poblaciones de hospedadores.
- Algunos virus pueden servir de medios de bioterrorismo con base en la posibilidad de transmisión de un hospedador a otro y de las tasas de mortalidad.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Algunos virus se caracterizan por la simetría helicoidal de la nucleocápside viral. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a los virus con simetría helicoidal es la más precisa?
   (A) Todos los virus con envoltura y simetría helicoidal se clasifican en la misma familia de virus.
   (B) Las nucleocápsides helicoidales se encuentran principalmente en los virus que contienen DNA.
   (C) Todos los virus humanos con nucleocápsides helicoidales poseen una envoltura.
   (D) En las células infectadas, con frecuencia se producen partículas helicoidales vacías, que no contienen ácido nucleico.
2. Las células infectadas por virus a menudo generan cambios morfológicos que se conocen como efectos citopáticos. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a los cambios citopáticos inducidos por virus es el más preciso?
   (A) Son patognomónicas para el virus infectante.
   (B) Rara vez se vinculan con muerte celular.
   (C) Pueden incluir la formación de células gigantes.
   (D) Pueden observarse sólo con microscopia electrónica.
3. Los virus por lo común inician la infección al interactuar en primer lugar con receptores en la superficie celular. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más precisa respecto a los receptores celulares para virus?
   (A) Los receptores celulares para virus no tienen una función celular conocida.
   (B) Todos los virus en una familia dada utilizan el mismo receptor celular.
   (C) Todas las células en hospedadores susceptibles expresan el receptor para el virus.
   (D) La infección exitosa de una célula por un virus puede incluir interacciones con más de un tipo de receptor.
4. ¿Cuál de los siguientes puede utilizarse para cuantificar los títulos de partículas virales infecciosas?
   (A) Análisis de placas
   (B) Microscopia electrónica
   (C) Hemaglutinación
   (D) Reacción en cadena de polimerasa
   (E) Enzimoinmunoanálisis de adsorción
5. ¿Cuál de los siguientes establece un principio respecto al ácido nucleico viral?
   (A) Los virus contienen RNA y DNA
   (B) Algunos virus contienen genoma segmentado
   (C) El ácido nucleico viral purificado de cualquier virus suele ser infeccioso
   (D) Los tamaños del genoma viral son similares entre los virus humanos conocidos
6. Se han aislado dos mutantes de poliovirus, uno con una mutación en el gen X (MutX) y el segundo con una mutación en el gen Y (MutY). Si las células se infectan cada una con un mutante aislado, no se producen virus. Si la célula se infecta con MutX y MutY, ¿cuál de las siguientes opciones tiene más probabilidad de ocurrir?
   (A) Reordenamiento de los segmentos del genoma lo que puede dar origen a un virus silvestre viable.
   (B) Los genomas pueden sufrir transcripción inversa a DNA con producción de virus MutX y MutY.
   (C) La complementación entre los productos génicos mutantes puede ocurrir con producción de virus MutX y MutY.
   (D) Las células se transforman con alta frecuencia porque no serán destruidas por mutantes de poliovirus.
7. ¿Cuál de los siguientes virus posee un genoma de RNA que es infeccioso en estado purificado?
   (A) Virus de la gripe
   (B) Poliovirus
   (C) Papilomavirus

(D) Virus del sarampión
(E) Rotavirus

8. ¿Cuál de los siguientes virus es probable que cause infecciones latentes?
   (A) Poxvirus
   (B) Filovirus
   (C) Herpesvirus
   (D) Virus de la gripe
   (E) Calicivirus
9. Algunos virus codifican una RNA polimerasa dependiente del RNA viral. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es un principio respecto a las RNA polimerasas virales?
   (A) Todo los RNA virus portan moléculas de RNA polimerasa en el interior de las partículas virales porque son necesarias para iniciar el siguiente ciclo infeccioso.
   (B) Los anticuerpos contra RNA polimerasa viral neutralizan la infectividad del virus.
   (C) Los RNA virus de cadena negativa proporcionan su propia RNA polimerasa dependiente de RNA, porque las células eucariotas carecen de tales enzimas.
   (D) La RNA polimerasa viral también actúa como proteína estructural importante en la partícula viral.
10. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a la morfología de los virus es verdadera?
   (A) Todos los RNA virus tienen forma esférica.
   (B) Algunos virus contienen flagelos.
   (C) Algunos virus con genomas de DNA poseen un núcleo primitivo.
   (D) Las proteínas superficiales del virus protegen al genoma de la acción de las nucleasas.
   (E) Se desarrollan nucleocápsides helicoidales en caso de DNA virus monocatenarios.
11. Muchos virus pueden cultivarse en laboratorio. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a la propagación de virus no es verdadera?
   (A) Algunos virus pueden propagarse en medios exentos de células.
   (B) Algunos virus de mamíferos pueden cultivarse en huevo de gallina.
   (C) Algunos virus que afectan a varios hospedadores pueden multiplicarse en muchos tipos de células.
   (D) Algunos virus que afectan a los seres humanos pueden cultivarse en ratones.
   (E) La mayor parte de las preparaciones de virus tiene tasas de partícula-unidad infecciosas superiores a la unidad.
12. Las infecciones pueden adquirirse en el laboratorio cuando se trabaja con virus a menos que se sigan buenas prácticas de seguridad. ¿Cuál de las siguientes no es una buena práctica de bioseguridad?
   (A) Uso de técnicas asépticas
   (B) Uso de batas de laboratorio y guantes
   (C) Evitar el uso de la pipeta con la boca
   (D) Eliminar los productos de desecho en los fregaderos del laboratorio
   (E) No consumir bebidas o alimentos en el laboratorio
13. ¿Con cuál de las estructuras siguientes los virus pequeños tienen límites dimensionales similares?
   (A) Estafilococos
   (B) Globulina sérica
   (C) Eritrocitos
   (D) Ribosomas eucariotas
   (E) Mitocondrias
14. De los factores siguientes: ¿cuál no constituye un factor importante que contribuya al fenómeno de enfermedades virales emergentes?
   (A) Viajes internacionales por aeronaves
   (B) Resistencia a antibióticos
   (C) Desforestación
   (D) Guerras
   (E) Trasplante de órganos y tejidos
15. Los arbovirus se clasifican en varias familias diferentes; sin embargo: ¿con base en cuál de las siguientes características comunes son agrupados?
   (A) Muestran replicación sólo en seres humanos
   (B) Contienen RNA y DNA
   (C) Son transmitidos por vectores
   (D) Causan fiebres hemorrágicas
   (E) Originan encefalitis

Respuestas

1. C	6. C	11. A
2. C	7. B	12. D
3. D	8. C	13. D
4. A	9. C	14. B
5. B	10. D	15. C

BIBLIOGRAFÍA

Centers for Disease Control and Prevention, Association of Public Health Laboratories: Guidelines for biosafety laboratory competency. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(suppl.):1.

Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, *et al.*: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.

Girones R: Tracking viruses that contaminate environments. *Microbe* 2006;1:19.

Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-16):1.

King AMQ, Adams MJU, Carstens EB, Lefkowitz EJ (editors): *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, 2012.

Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief): *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Preventing emerging infectious diseases: A strategy for the 21st century. Overview of the updated CDC plan. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47(RR-15):1.

Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America.

Woolhouse MEJ: Where do emerging pathogens come from? *Microbe* 2006;1:511.

apter 29_Carroll_4R.indd 420 14/04/16

CAPÍTULO

30

Patogenia y control de enfermedades virales

PRINCIPIOS DE ENFERMEDAD VIRAL

El proceso fundamental de las infecciones por virus es el ciclo de replicación viral. La respuesta celular a la infección puede variar desde la ausencia de un efecto aparente hasta un estado citopatológico que conlleva la muerte celular acompañada por hiperplasia o cáncer.

La **enfermedad viral** es una anomalía peligrosa, consecuencia de la infección viral en el organismo hospedador, cuyas **manifestaciones clínicas** consisten en signos y síntomas evidentes. Un **síndrome** es un grupo específico de síntomas y signos. Las infecciones virales que no producen síntomas en el hospedador se denominan asintomáticas (subclínicas). De hecho, la mayor parte de tales infecciones no producen enfermedad (figura 30-1).

A continuación se enumeran principios importantes propios de la enfermedad viral: 1) muchas infecciones virales son subclínicas; 2) el mismo síndrome pueden producirlo varios virus; 3) el mismo virus puede producir varias enfermedades y 4) el resultado en cada caso particular lo determinan factores tanto virales como del hospedador y está influido por las condiciones ambientales y genéticas de cada uno.

La **patogénesis viral** es el proceso que tiene lugar cuando un virus infecta a una célula y causa cambios en ésta. La **patogenia de la enfermedad** es un subconjunto de sucesos durante una infección que resulta en manifestaciones de enfermedad en el hospedador. Un virus es **patógeno** para un hospedador particular si puede infectar y causar signos de enfermedad en dicho hospedador. Una cepa de un virus determinado es más **virulenta** que otra si produce comúnmente enfermedad más grave en un hospedador susceptible. La virulencia viral en animales intactos no está relacionada necesariamente con citopatogenicidad para células cultivadas; los virus muy citolíticos *in vitro* pueden ser no dañinos *in vivo* y, a la inversa, los virus no citolíticos pueden causar enfermedad grave.

En el cuadro 30-1 se muestra una comparación de los atributos importantes de dos categorías generales de enfermedades virales agudas (locales, sistémicas).

PATOGENIA DE ENFERMEDADES VIRALES

Para producir enfermedad los virus deben entrar al hospedador, hacer contacto con células susceptibles, multiplicarse y producir lesión celular. La comprensión de los mecanismos de la patogenia viral a nivel molecular requiere diseñar estrategias antivirales efectivas. Mucho de nuestro conocimiento de la patogenia viral se basa en cultivo de células y modelos animales debido a que tales sistemas pueden ser manipulados y estudiados con rapidez.

Pasos de la patogenia viral

Los pasos específicos involucrados en la patogenia viral son los siguientes: ingreso del virus al hospedador, multiplicación viral primaria, diseminación viral, lesión celular, respuesta inmunitaria del hospedador, depuración viral o establecimiento de infección persistente y propagación viral.

A. Ingreso y replicación primaria

La mayor parte de las infecciones virales comienzan cuando los virus atacan e ingresan a las células de una de las superficies corporales (piel, vía respiratoria, vía gastrointestinal, vía urogenital o conjuntiva). Casi todos entran a sus hospedadores a través de la mucosa del aparato respiratorio o gastrointestinal (cuadro 30-2). Sin embargo, algunos virus pueden introducirse directamente a los tejidos o el torrente sanguíneo a través de heridas cutáneas, agujas (p. ej., hepatitis B y C, virus de inmunodeficiencia en humanos [VIH]), transfusiones sanguíneas o insectos vectores (arbovirus).

Después de ingresar, el ácido nucleico viral y las proteínas asociadas al virión interactúan con macromoléculas celulares para producir en última instancia viriones nuevos que son liberados de la célula hospedadora por diseminación o lisis celular. Los mecanismos específicos de multiplicación viral son muy variables y pueden ser del todo complejos, apoyados en una o más etapas de producción intermedias. Los viriones liberados son entonces capaces de unirse e infectar otras células en la proximidad inmediata, lo que causa diseminación local de la infección.

B. Diseminación viral y tropismo celular

Algunos virus, por ejemplo el virus de la influenza (infecciones respiratorias) y norovirus (infecciones gastrointestinales), producen enfermedad en la puerta de entrada y típicamente no se diseminan de manera sistemática. Otros pueden diseminarse a sitios distantes (p. ej., citomegalovirus [CMV], VIH, virus de la rabia) y causar manifestaciones adicionales de la enfermedad (figura 30-2). Los mecanismos de la diseminación viral varían, pero la vía más común es el torrente sanguíneo o los linfáticos. La presencia de virus en la sangre se llama **viremia**. Los viriones pueden estar libres en el plasma (p. ej., enterovirus, togavirus) o asociados con tipos celulares específicos (p. ej., virus

apter 30_Carroll_4R.indd 421 14/04/16

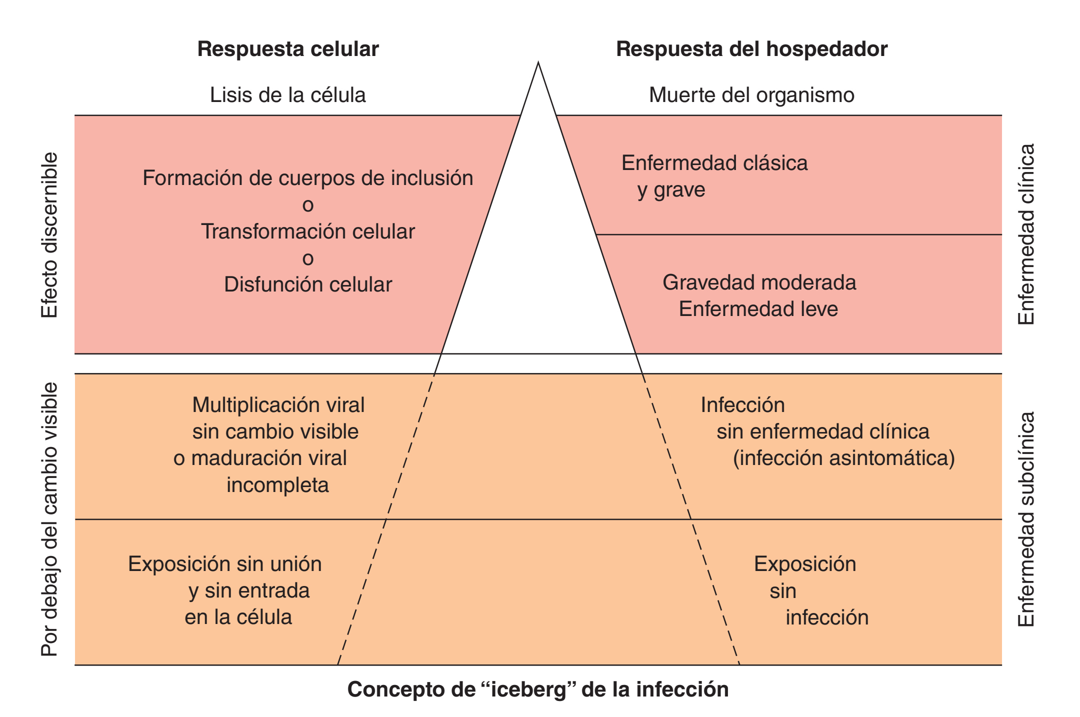


FIGURA 30-1 Tipos de respuestas del hospedador a la infección por virus. (Modificada con autorización de Evans AS: Epidemiological concepts. En: Evans AS, Brachman PS [editores]: *Bacterial Infections of Humans*, 3a. ed. Plenum, 1998. Con autorización de Springer Science+Business Media.)

del sarampión) (cuadro 30-3). Los virus pueden multiplicarse dentro de tales células (p. ej., el virus de Epstein-Barr [EBV] es linfotrófico y puede multiplicarse dentro de leucocitos en la medida que se disemina). Algunos virus viajan por los axones neuronales para diseminarse dentro del hospedador (p. ej., la rabia migra al cerebro, el virus del herpes simple [HSV] viaja a los ganglios para producir infección latente).

Los virus tienden a mostrar especificidades de tipo orgánico o celular, o tropismo viral. El tropismo determina los tipos de enfermedad sistémica producida durante una infección viral. Como ejemplo, el virus de la hepatitis B tiene un tropismo para los hepatocitos, y la hepatitis es la enfermedad primaria causada por el virus.

El tropismo hístico y celular por un virus dado suele reflejar la presencia de receptores de superficie celular específicos para esos virus. Los receptores son componentes de la superficie celular con la cual una región de la superficie viral (cápside o envoltura) puede interactuar específicamente e iniciar infección. Los receptores son componentes celulares que funcionan en el metabolismo celular normal pero también suelen tener una afinidad por un virus particular. La identidad del receptor celular específico se conoce en algunos virus pero se desconoce en muchos casos.

El nivel de expresión del receptor de superficie celular y sus modificaciones postraduccionales afectan la capacidad de los virus para infectar diversos tipos celulares. Por ejemplo, el virus de la influenza requiere proteasas celulares, para romper la hemaglutinina codificada viralmente en aras de posibilitar que los virus infecten células nuevas, y la expresión de una enzima glucolítica (neuraminidasa) para liberar viriones formados recientemente. En los tejidos que no expresan las proteínas apropiadas, no tendrán lugar episodios múltiples de reproducción viral.

CUADRO 30-1 Características importantes de las enfermedades virales agudas

	Infecciones locales	Infecciones sistémicas
Ejemplos específicos de la enfermedad	Respiratoria (rinovirus)	Sarampión
Sitio de la enfermedad	Vía de entrada	Sitios distantes
Periodo de incubación	Relativamente breve	Relativamente largo
Viremia	Ausente	Presente
Duración de la inmunidad	Variable; puede ser breve	Por lo común es de por vida
Participación en la resistencia mediante la producción de anticuerpos de secreción (IgA)	Por lo general, importante	Casi siempre sin importancia

C. Lesión celular y enfermedad clínica

La destrucción de células infectadas por los virus y las alteraciones fisiológicas generadas en el hospedador por la lesión hística son en parte la causa para el desarrollo de la enfermedad. Algunos tejidos, como el epitelio intestinal, pueden regenerarse con rapidez y soportar daño intensivo mejor que otros, como el cerebral. Algunos efectos fisiológicos causan alteración no letal de células con funciones especializadas, por ejemplo la pérdida de producción de hormonas. Las enfermedades clínicas por infecciones virales son consecuencia de una serie compleja de acontecimientos y se desconocen muchos factores que determinan el grado de la enfermedad. Los síntomas generales relacionados con muchas infecciones virales, como malestar y

CUADRO 30-2 Vías comunes de infecciones virales en seres humanos

Vía de entrada	Grupo viral	Producen síntomas locales en el sitio de entrada	Producen infección generalizada más enfermedad de órganos específicos
Aparato respiratorio	Parvovirus		B19
	Adenovirus	La mayor parte de los tipos	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Virus de la varicela
	Poxvirus		Virus de la viruela
	Picornavirus	Rinovirus	Algunos enterovirus
	Togavirus		Virus de la rubéola
	Coronavirus	La mayor parte de los tipos	
	Ortomixovirus	Virus de la gripe	
	Paramixovirus	Virus de parainfluenza, virus sincicial respiratorio	Virus de la parotiditis y del sarampión
Boca, tubo digestivo	Adenovirus	Tipos 40 y 41	
	Calicivirus	Norovirus	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Citomegalovirus
	Picornavirus		Algunos enterovirus, incluidos poliovirus y virus de la hepatitis A
	Reovirus	Rotavirus	
Piel			
Traumatismo leve	Papilomavirus	La mayor parte de los tipos	
	Herpesvirus	Virus del herpes simple	
	Poxvirus	Virus del molusco contagioso, virus Orf	
Inyección	Hepadnavirus		Hepatitis B
	Herpesvirus		Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus
	Retrovirus		Virus de la inmunodeficiencia humana
Mordeduras	Togavirus		Muchas especies, lo que incluye virus de la encefalitis equina oriental
	Flavivirus		Muchas especies, incluido el virus de la fiebre amarilla
	Rhabdovirus		Virus de la rabia

anorexia, pueden ser consecuencia de la respuesta del hospedador, por ejemplo la producción de citocinas. La enfermedad clínica es un indicador insensible de la infección viral; son muy comunes las infecciones virales asintomáticas.

D. Recuperación de la infección

A consecuencia de una infección viral, el hospedador flaqueará, se recuperará o será objeto de una infección crónica. Los mecanismos de recuperación incluyen respuestas inmunitarias tanto innata como adaptativa. El interferón (IFN) y otras citocinas, la inmunidad humoral y la mediada por células, y tal vez otros factores de defensa del hospedador estén involucrados. La importancia relativa de cada componente difiere con el virus y la enfermedad.

La importancia de factores del hospedador que influyen sobre los resultados de infecciones virales se muestra por un suceso en el decenio de 1940, en el cual 45 000 miembros de la milicia fueron inoculados con vacuna del virus de la fiebre amarilla que se contaminó con virus de la hepatitis B. Aunque el personal fue sometido presumiblemente a exposiciones comparables, se presentó hepatitis crónica en sólo 2% (914 casos), y de ellos sólo 4% desarrollaron enfermedad seria. La base genética de la **susceptibilidad del hospedador** permanece por determinarse en la mayor parte de las infecciones.

En infecciones agudas, la recuperación está asociada con depuración viral y producción de anticuerpo específico contra el virus. El establecimiento de una infección crónica conlleva interacción compleja entre factores virales y de inmunidad del hospedador, y el virus puede entrar a un estado latente de vida larga o reactivarse de manera subsecuente y causar enfermedad meses o años después.

E. Dispersión del virus

La última etapa de la patogenia es la dispersión del virus infeccioso en el ambiente. Es un paso necesario para mantener una infección viral en poblaciones de hospedadores. Por lo general la dispersión tiene lugar de superficies corporales involucradas en la entrada del virus (véase figura 30-2). La dispersión sucede en diferentes etapas de la enfermedad, lo cual depende del agente particular involucrado. Durante la dispersión viral un individuo infectado es contagioso para contactos. En algunas infecciones virales, como la rabia, los

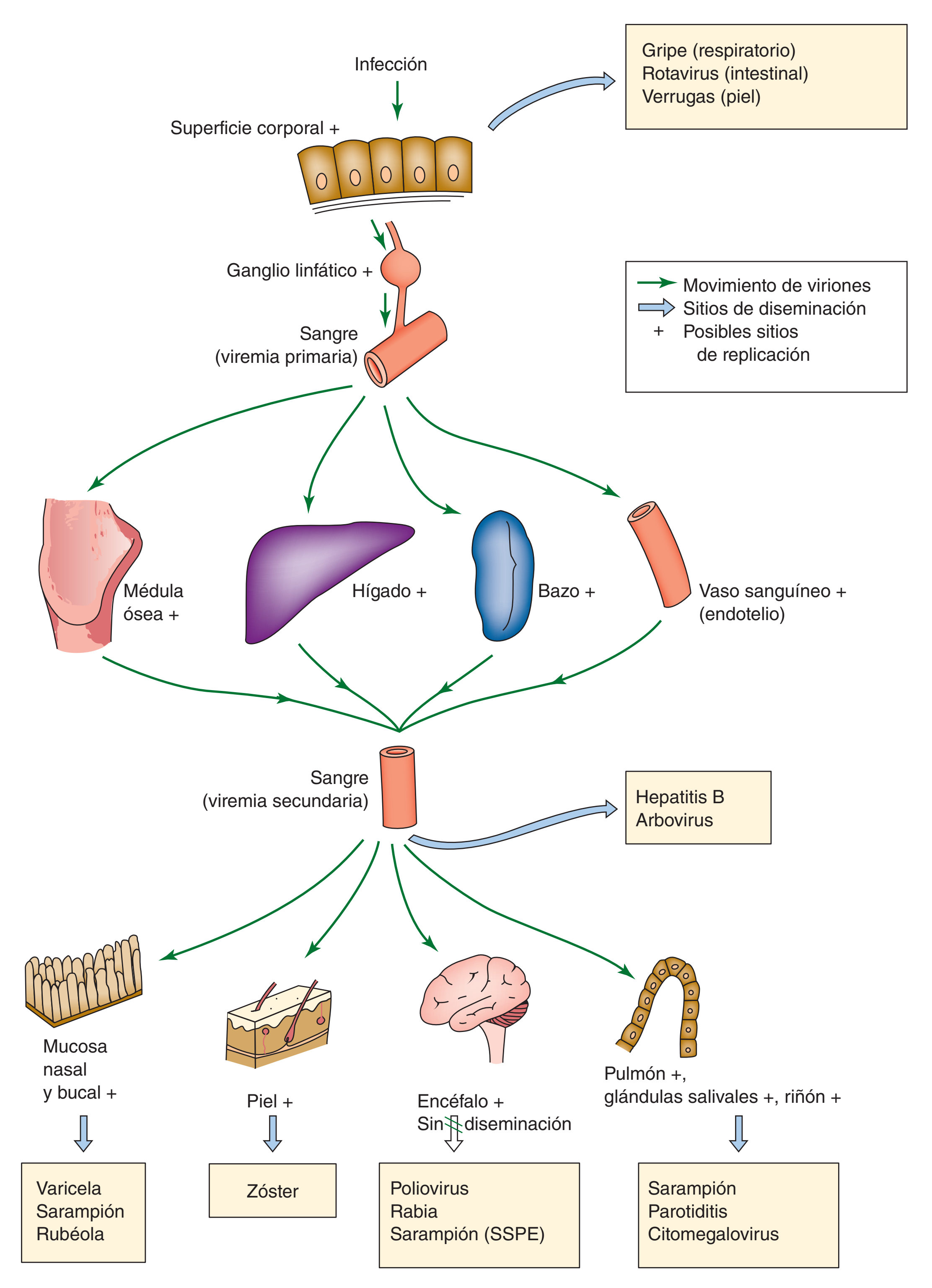


FIGURA 30-2 Mecanismo de diseminación de virus a través del cuerpo en infecciones virales en seres humanos. (+) indica sitios de posible replicación viral; las flechas grandes indican sitios de diseminación viral, con ejemplos de enfermedades en las cuales es importante la vía de excreción. La transferencia a partir de la sangre ocurre por transfusión en el caso de la hepatitis B y por picadura de mosquito en ciertas infecciones por arbovirus. SSPE, panencefalitis esclerosante subaguda (Modificada de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Copyright© 1984 by Blackwell Science Ltd. Con autorización de Wiley.)

CUADRO 30-3 Diseminación de virus a través del torrente sanguíneo

Tipo celular asociado	Ejemplos	
	DNAvirus	RNAvirus
Linfocitos	Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus de la hepatitis B, virus JC, virus BK	Parotiditis, sarampión, rubéola, virus de la inmunodeficiencia humana
Monocitos-macrófagos	Citomegalovirus	Poliovirus, virus de la inmunodeficiencia humana, virus del sarampión
Neutrófilos		Virus de la gripe
Eritrocitos	Parvovirus B19	Virus de la fiebre por garrapata del Colorado
Ninguno (libre en el plasma)		Togavirus, picornavirus

Modificado con autorización de Tyler KL, Fields BN: Pathogenesis of viral infections. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM *et al.* (editores). *Fields Virology*, 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.

seres humanos representan infecciones a manera de callejón sin salida y la dispersión no tiene lugar. En la figura 30-3 se muestran dos ejemplos de la patogenia causada por infecciones virales diseminadas.

Respuesta inmunitaria del hospedador

El resultado de infecciones virales refleja el entrejuego entre factores virales y del hospedador. Los mecanismos de defensa del hospedador no específicos por lo general inician muy pronto después de la infección viral. La de mayor importancia entre las respuestas inmunitarias innatas es la inducción de citocinas, por ejemplo los IFN (véase discusión adelante). Tales respuestas ayudan a inhibir el crecimiento viral durante el tiempo que toma inducir inmunidad específica humoral y mediada por células.

A. Respuesta inmunitaria innata

La respuesta inmunitaria innata es mediada en gran medida por IFN, los cuales son proteínas codificadas por el hospedador que forman parte de la gran familia de citocinas inhibidoras de la reproducción viral. Son producidas de manera muy rápida (en lapso de horas) como reacción a la infección viral u otros inductores y constituyen uno de los primeros que responden en la defensa contra la infección viral. Los IFN también modulan la inmunidad humoral y celular; tienen una gama amplia de actividades reguladoras del crecimiento celular.

Las muchas especies de IFN forman tres grupos generales: se designan IFN-α, IFN-β e IFN-γ (cuadro 30-4). IFN-α e IFN-β se consideran interferones de tipo I o virales; el IFN-γ es de tipo II o interferón inmunitario. La infección con virus es un inductor potente de producción de IFN-α e IFN-β; los virus de RNA son inductores más potentes de IFN que los virus de DNA. Los interferones también pueden inducirse por RNA bicatenario y endotoxina bacteriana. El IFN-γ no es producido en respuesta a la mayor parte de virus pero lo induce la estimulación mitógena.

Los IFN se detectan pronto después de la infección viral en animales intactos y entonces la producción viral disminuye (figura 30-4). El anticuerpo no aparece en la sangre del animal, excepto varios días después que la producción viral se abatió. Esta relación temporal sugiere que el IFN tiene una función primaria en la defensa no específica del huésped contra infecciones virales, así como el hecho de que los individuos agammaglobulinémicos por lo general se recuperan de infecciones virales primarias casi como lo hacen las personas normales.

El IFN se secreta y se une a receptores celulares, donde induce un estado antiviral al impulsar la síntesis de otras proteínas que inhiben la reproducción viral. Al parecer están involucradas varias rutas, incluidas: 1) proteína cinasa dependiente de RNA bicatenario, PKR, que fosforila e inactiva el factor de iniciación celular eIF-2 y por lo tanto evita la formación del complejo de iniciación necesario para la síntesis de proteína viral; 2) una oligonucleótido sintetasa, sintetasa 2-5A, que activa una endonucleasa celular, RNasa L, que a su vez degrada al mRNA; 3) una fosfodiesterasa, que inhibe el alargamiento de la cadena peptídica, y 4) óxido nítrico sintetasa, que es inducida por IFN-γ en macrófagos.

Los virus muestran mecanismos diferentes que bloquean las actividades inhibidoras de los IFN en la replicación viral. Los ejemplos incluyen proteínas virales específicas que bloquean la inducción de expresión de IFN (virus del herpes, virus del papiloma, filovirus, virus de la hepatitis C, rotavirus), bloquean la activación de la proteína cinasa PKR clave (adenovirus, virus del herpes), activan un inhibidor celular de PKR (influenza, virus de la poliomielitis), bloquean la transducción de señal inducida por IFN (adenovirus, virus del herpes, virus de la hepatitis B) o neutralizan el IFN-γ al actuar como un receptor de IFN soluble (virus de mixoma).

B. Respuesta inmunitaria adaptativa

Los componentes humoral y celular de la respuesta inmunitaria participan en el control de la infección viral. Los virus desencadenan una reacción hística diferente de la respuesta a las bacterias patógenas. Los leucocitos polimorfonucleares constituyen la principal respuesta celular a la inflamación aguda causada por bacterias piógenas, en tanto que en las lesiones virales no complicadas, la reacción inflamatoria se caracteriza por infiltración con células mononucleares y linfocitos.

Las proteínas codificadas por los virus actúan como objetivo para la respuesta inmunitaria. Las células infectadas por virus pueden ser destruidas por linfocitos T citotóxicos como consecuencia de la identificación de polipéptidos virales en la superficie celular. La inmunidad humoral protege al hospedador contra la reinfección por el mismo virus. Los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra proteínas de la cápside bloquean el inicio de la infección viral, probablemente en la etapa de unión, penetración o pérdida de la envoltura. Los anticuerpos IgA secretores son importantes en la protección de la infección contra virus a través del aparato respiratorio o del tubo digestivo.

Algunas características especiales de ciertos virus pueden tener efectos notables en la respuesta inmunitaria del hospedador. Algunos virus infectan y dañan células del sistema

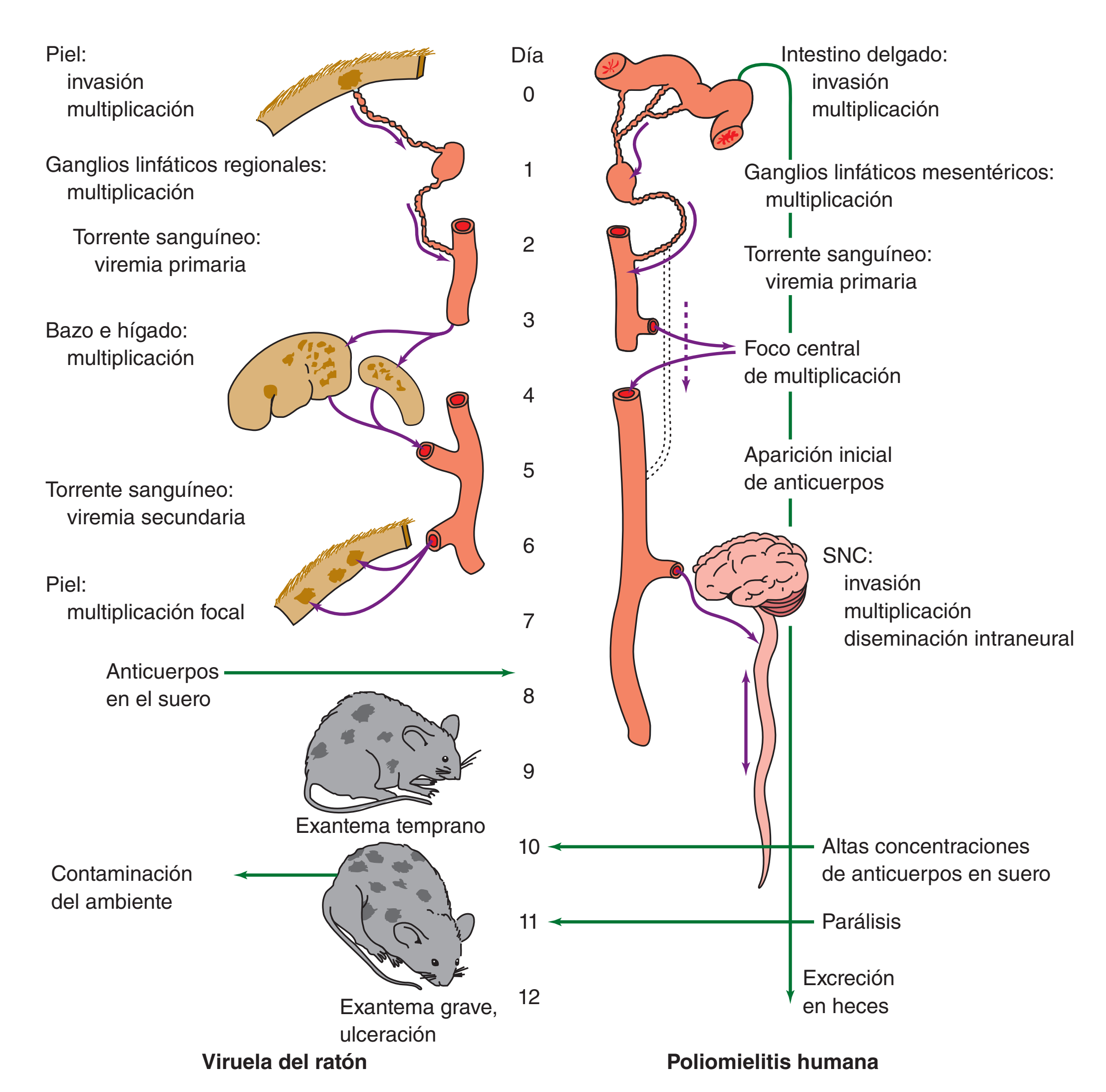


FIGURA 30-3 Representaciones esquemáticas de la patogenia de infecciones virales diseminadas (viruela del ratón y poliomielitis). Tales virus se adhieren y se replican localmente, se diseminan a través de las circulaciones linfática y sanguínea a sitios distantes donde se multiplican adicionalmente y pueden producir enfermedad, seguida por dispersión en el ambiente desde el sitio de infección inicial. (Por cortesía de F. Fenner.)

inmunitario. El ejemplo más notable es el retrovirus humano relacionado con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) que infecta linfocitos T y destruye su capacidad funcional (capítulo 44).

Los virus han evolucionado de diversas formas que les permiten inhibir o evadir la respuesta inmunitaria y de esta manera evitan ser destruidos. Con frecuencia, las proteínas virales relacionadas en la modulación de la respuesta del hospedador no son esenciales para el crecimiento del virus en cultivos de tejidos y sus propiedades se tornan evidentes sólo en experimentos de patogenia en animales. Además de infectar células del sistema inmunitario y suprimir su función (VIH) también pueden infectar neuronas que expresan poco o no expresan moléculas MHC de clase I (herpesvirus) o pueden codificar proteínas inmunomoduladoras que inhiben la función de MHC (adenovirus, herpesvirus) o inhiben la actividad de las citocinas (poxvirus, virus del sarampión). Los virus pueden mutar y cambiar el sitio antigénico en las proteínas del virión (virus de la gripe, VIH) o causar regulación descendente del nivel de expresión de proteínas virales en la superficie celular (herpesvirus). Los microRNA codificados por virus pueden dirigirse y actuar en transcriptos celulares específicos y suprimir proteínas que son integrales para la respuesta inmunitaria innata del hospedador (poliomavirus, herpesvirus).

La respuesta inmunitaria a un virus o vacuna puede exacerbar la enfermedad causada por infección subsecuente con cepas similares. Por ejemplo, la fiebre hemorrágica por virus del dengue puede desarrollarse en personas que ya han tenido al menos una infección con otro serotipo del dengue debido a la respuesta intensa del hospedador a la infección.

Otro efecto adverso potencial de la respuesta inmunitaria es el desarrollo de autoanticuerpos mediante un proceso conocido como *mimetismo molecular*. Si un antígeno viral induce anticuerpos que adicionalmente reconocen un determinante antigénico en una proteína celular en tejidos normales, puede resultar lesión celular o pérdida de la función no relacionada con infección viral. Entonces, el hospedador puede experimentar enfermedad autoinmunitaria posinfecciosa, por ejemplo síndrome de Guillain-Barre asociado con antecedentes de sarampión.

CUADRO 30-4 Propiedades de los interferones humanos

Propiedad	Tipo Alfa	Tipo Beta	Tipo Gamma
Nomenclatura actual	IFN-α	IFN-β	IFN-γ
Designación anterior	Leucocito	Fibroblasto	Interferón inmunitario
Tipo de designación	Tipo I	Tipo I	Tipo II
Número de genes que codifican a la familia	≥ 20	1	1
Principal fuente celular	La mayor parte de tipos celulares	La mayor parte de tipos celulares	Linfocitos
Agente inductor	Virus; dsRNA	Virus; dsRNA	Mitógenos
Estabilidad en pH 2.0	Estable	Estable	Lábil
Glucosilada	No	Sí	Sí
Intrones en los genes	No	No	Sí
Homología con el IFN-α	80 a 95%	30%	<10%
Ubicación cromosómica de los genes	9	9	12
Tamaño de la proteína secretada (número de aminoácidos)	165	166	143
Receptor de IFN	IFNAR	IFNAR	IFNGR
Ubicación cromosómica de los genes de los receptores de IFN	21	21	6

dsRNA, RNA bicatenario; INF, interferón.

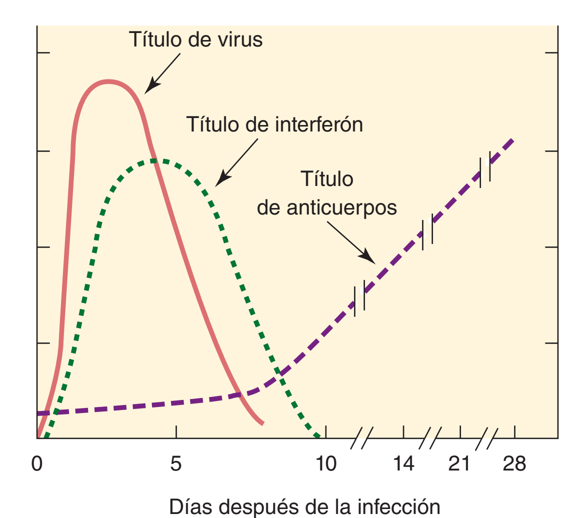


FIGURA 30-4 Ilustración de la cinética del interferón y la síntesis de anticuerpos después de la infección respiratoria viral. Las relaciones temporales sugieren que el interferón participa en las defensas iniciales del hospedador contra las infecciones virales.

Persistencia viral: infecciones virales crónicas y latentes

Las infecciones son **agudas** cuando el virus infecta por primera vez a un hospedador susceptible. Las infecciones virales casi siempre desaparecen de forma espontánea. Sin embargo, algunas veces el virus persiste en el hospedador por periodos prolongados. Las interacciones a largo plazo entre el virus y el hospedador pueden tomar varias formas. Las **infecciones crónicas** (también denominadas **infecciones persistentes**) son aquéllas en las cuales se detecta replicación continua del virus, a menudo en bajas concentraciones; quizá se observen síntomas clínicos leves o ausencia de manifestaciones clínicas. En las **infecciones latentes**, el virus persiste de manera oculta la mayor parte del tiempo, sin producción de nuevas partículas virales. Se observan brotes intermitentes de la enfermedad clínica; durante tales brotes, es posible recuperar virus infecciosos. Por medio de técnicas moleculares en tejidos es factible detectar secuencias virales en los tejidos con infecciones latentes. Las infecciones **subclínicas** o **asintomáticas** son aquéllas sin signos evidentes de su presencia.

Las infecciones crónicas ocurren con varios virus animales y, en ciertos casos, la persistencia de la infección depende de la edad del hospedador cuando sufrió la infección. Por ejemplo, en seres humanos las infecciones por citomegalovirus y por virus de la rubéola adquiridas *in utero* de forma característica dan origen a persistencia viral de duración limitada, tal vez por el desarrollo de una respuesta inmunitaria para reaccionar ante la infección conforme madura el niño. Los lactantes infectados con virus de la hepatitis B con frecuencia sufren infección persistente (portadores crónicos); la mayor parte de los portadores evoluciona en forma asintomática (capítulo 35).

El herpesvirus por lo común produce infecciones latentes. El virus del herpes simple penetra en los ganglios sensoriales y persiste en un estado no infeccioso (figura 30-5). Puede haber reactivaciones periódicas, durante las cuales las lesiones contienen virus infecciosos en sitios periféricos (p. ej., herpes labial). El virus de la varicela (virus de varicela zóster) también permanece en estado latente en los ganglios sensoriales. Las recurrencias son poco comunes y ocurren años más tarde, casi siempre siguiendo la distribución de un nervio periférico (herpes zóster). Otros miembros de la familia herpesvirus también causan infecciones latentes, lo cual incluye al citomegalovirus y el virus de Epstein-Barr. Todos ellos pueden reactivarse en estados de inmunodepresión. Como consecuencia, las infecciones por reactivación de herpesvirus pueden ser una complicación grave para personas que reciben tratamiento inmunodepresor.

Las infecciones virales persistentes pueden originar enfermedades de gran trascendencia en seres humanos y se vinculan con ciertos tipos de cáncer (capítulo 43) así como padecimientos degenerativos y progresivos del SNC (capítulo 42). En la figura 30-6, se muestran ejemplos de diferentes tipos de infecciones virales persistentes.

Las encefalopatías espongiformes son un grupo de infecciones crónicas, progresivas y letales del SNC causadas por agentes no convencionales, transmisibles, denominados priones (capítulo 42). Los priones no son virus, sino proteínas cuyas alteraciones estructurales pueden causar cambios en la conformación en las proteínas del hospedador que conducen a agregación y disfunción, y son transmisibles de manera similar a otros agentes infecciosos. Algunos ejemplos de infecciones priónicas son la tembladera de las ovejas, la encefalopatía espongiforme

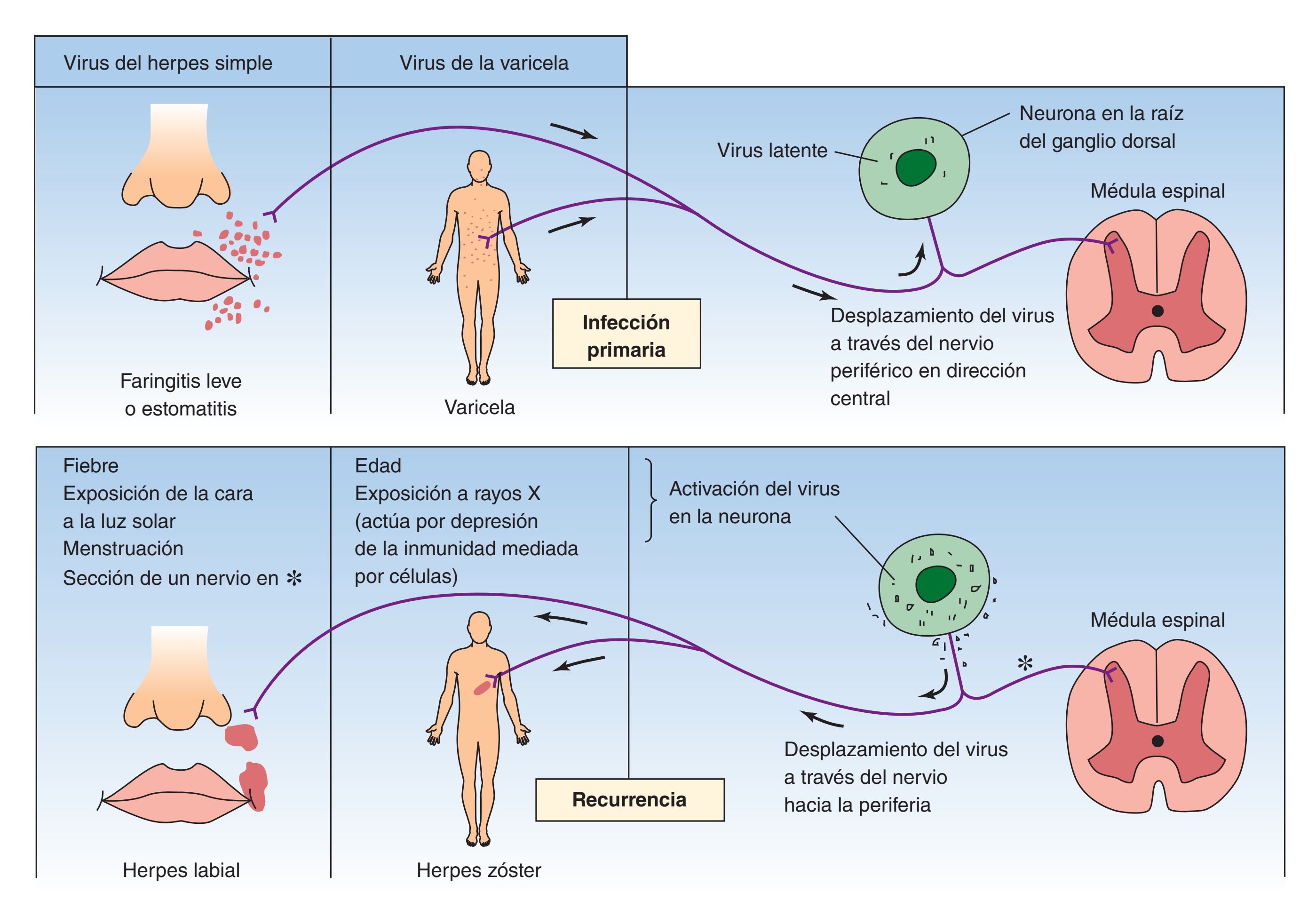


FIGURA 30-5 Infecciones latentes por herpesvirus. Los ejemplos que se muestran son por virus del herpes simple y varicela zóster. Las infecciones primarias ocurren en la infancia o la adolescencia, seguidas por el establecimiento de virus latentes en tejido cerebral o en los ganglios raquídeos. La activación tardía causa herpes simple o herpes zóster recurrentes. Las recurrencias son poco comunes para herpes zóster. CMI (*cell–mediated immunity)*, inmunidad celular. (Modificada por Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Copyright© 1984 by Blackwell Science Ltd. Con autorización de Wiley.)

bovina y el kuru, así como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos.

Generalidades de infecciones respiratorias virales agudas

Muchos tipos de virus obtienen el acceso al cuerpo humano a través del aparato respiratorio, sobre todo en la forma de gotas por aerosoles o saliva. Este es el medio más frecuente de penetración del virus en el hospedador. Surgen infecciones exitosas pese a los mecanismos protectores normales del hospedador, los cuales incluyen la cubierta de moco en la mayor parte de las superficies, la acción ciliar, los cúmulos de células linfoides, los macrófagos alveolares y la IgA secretora. Muchas infecciones permanecen circunscritas en el aparato respiratorio, aunque algunos virus producen síntomas característicos de la enfermedad después de la diseminación sistémica (p. ej., varicela, sarampión, rubéola; cuadro 30-2, figura 30-2).

Las infecciones del aparato respiratorio constituyen un problema de grandes dimensiones y trascendencia a escala mundial. Ellas constituyen la causa más frecuente de muerte en niños menores de cinco años de edad y donde las enfermedades diarreicas ocupan el segundo lugar de frecuencia. Los síntomas de la enfermedad mostrados por el hospedador dependen de si la infección afecta de modo predominante la parte superior o inferior del aparato respiratorio (cuadro 30-5). La gravedad de las infecciones respiratorias puede variar desde infección asintomática hasta infección grave. El diagnóstico definitivo requiere aislamiento del virus, identificación de la secuencia génica viral, demostración del incremento en los títulos de anticuerpos, pero casi siempre la enfermedad viral específica puede deducirse con base en los síntomas principales, la edad del paciente, la época del año y los patrones de enfermedad extrahospitalaria.

Generalidades de las infecciones virales del tubo digestivo

Muchos virus inician la infección a través del tubo digestivo. Unos cuantos de estos agentes, como el virus del herpes simple y virus de Epstein-Barr, probablemente infectan las células de la boca. Los virus quedan expuestos en el tubo digestivo a la IgA secretora y a elementos nocivos vinculados con la digestión de alimentos, tales como ácido, sales biliares (detergentes) y enzimas proteolíticas. Como consecuencia, los virus capaces de iniciar la infección por esta vía son resistentes a las sales biliares y al ácido.

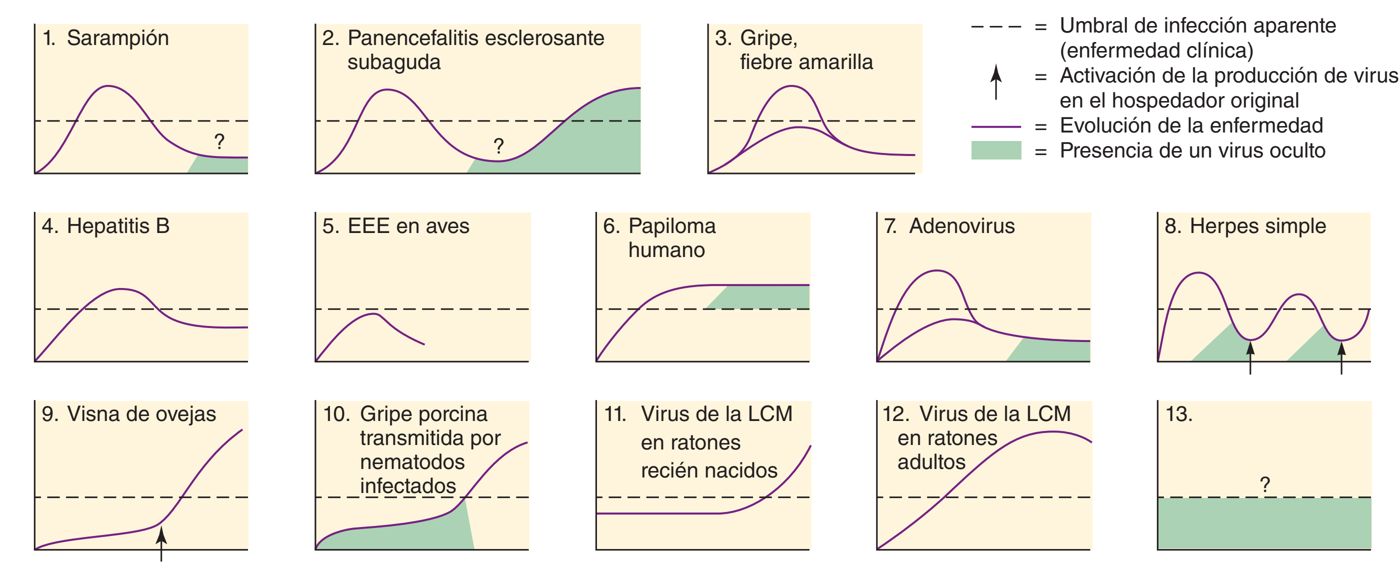
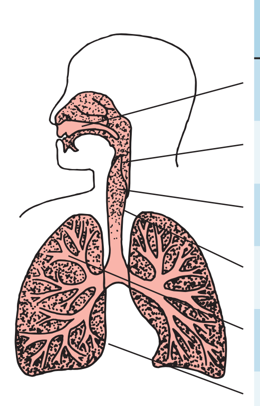


FIGURA 30-6 Diferentes tipos de interacciones entre virus y hospedador; infección aparente (enfermedad clínica), no aparente (subclínica), crónica, latente, oculta y lenta. 1) El virus del sarampión presenta evolución aguda, casi siempre con manifestaciones clínicas aparentes y da origen a inmunidad de larga duración; 2) El sarampión también parece relacionarse con persistencia de infecciones latentes en la panencefalitis esclerosante subaguda (capítulo 40); 3) La fiebre amarilla y la gripe siguen un patrón similar al del sarampión, con excepción de que la infección a menudo puede ser subclínica; 4) En la hepatitis B, la recuperación de la enfermedad clínica puede relacionarse con infección crónica, en la cual persiste el virus completamente activo en la sangre; 5) Algunas infecciones, en particular en ciertas especies, siempre evolucionan sin manifestaciones clínicas, como en el caso de la encefalomielitis equina oriental (EEE, *eastern equine encephalitis*) en la que algunas especies de aves actúan como reservorios del virus; 6) En seres humanos, la evolución de la infección por papiloma es crónica; cuando se desarrolla cáncer cervicouterino, el virus se encuentra presente pero oculto (sin replicación); 7) La infección de seres humanos con ciertos adenovirus puede ser clínica o subclínica. Puede haber infecciones latentes prolongadas durante las cuales el virus se encuentra presente en pequeñas cantidades; quizá también haya persistencia de los virus después de la enfermedad; 8) La reactivación periódica del virus del herpes simple latente, el cual puede presentar recurrencias a lo largo de toda la vida en seres humanos, a menudo se continúa como un episodio agudo inicial de estomatitis en la infancia; 9) La infección puede pasarse por alto por periodos prolongados antes de que sea evidente. Ejemplos de tales "infecciones lentas" que se caracterizan por periodos prolongados de incubación son el visna en las ovejas y kuru en seres humanos (aunque ésta es causada por priones, no por virus); 10) En cerdos que comen nematodos que portan virus, la gripe porcina permanece oculta hasta que el estímulo apropiado induce la producción de virus y, a su vez, la enfermedad clínica; 11) El virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM, *lymphocytic choriomeningitis*) puede establecerse en ratones por infección *in utero*. Se genera una forma de tolerancia inmunitaria en la cual no se activan los linfocitos T específicos contra el virus. Se producen anticuerpos contra proteínas virales; así, los anticuerpos y el virus de la LCM forman complejos antígeno-anticuerpo que originan enfermedad por complejos inmunitarios en el hospedador. La presencia de virus de la LCM en esta infección crónica (virus circulante con poca o ninguna enfermedad aparente) puede revelarse por la transmisión a un hospedador que actúe como indicador, por ejemplo, un ratón adulto que pertenece a una cepa sin exposición al virus; 12) Todos los ratones adultos manifiestan síntomas agudos clásicos de coriomeningitis linfocítica y con frecuencia fallecen; 13) Se muestra la posibilidad de infección con un virus oculto, del cual es imposible detectar su replicación. La prueba de la presencia de tal virus permanece como una actividad difícil, sin embargo, llama la atención de los investigadores en cáncer (capítulo 43).



CUADRO 30-5 Infecciones virales del aparato respiratorio

Síndromes	Síntomas principales	Causas virales más frecuentes[a] Lactantes	Niños	Adultos
Resfriado común	Obstrucción nasal, secreción nasal	RNAvirus DNAvirus	RNAvirus DNAvirus	RNAvirus Coronavirus
Faringitis	Faringodinia	Adenovirus Herpes simple	Adenovirus Coxsackievirus	Adenovirus Coxsackievirus
Laringitis/crup	Disfonía, tos seca	Parainfluenza Gripe	Parainfluenza Gripe	Parainfluenza Gripe
Traqueobronquitis	Tos	Parainfluenza Virus sincicial respiratorio	Parainfluenza Gripe	Gripe Adenovirus
Bronquiolitis	Tos, disnea	Virus sincicial respiratorio Parainfluenza	Infrecuente	Infrecuente
Neumonía	Tos, dolor torácico	Virus sincicial respiratorio Gripe	Gripe Parainfluenza	Gripe Adenovirus

[a] Muchos de los virus del aparato respiratorio notificados con frecuencia varían con el diseño del estudio, la población estudiada, los métodos de detección y otros factores (como el mes del año).

El término "gastroenteritis aguda" se refiere a la enfermedad gastrointestinal de corta duración con síntomas que van desde diarrea leve acuosa hasta enfermedad febril grave caracterizada por vómito, diarrea y postración. Las principales causas de gastroenteritis incluyen rotavirus, virus Norwalk y calicivirus. Los lactantes y los niños son los afectados con mayor frecuencia, y pueden ocurrir varios trastornos, lo que la convierte en un tema de salud pública significativo.

Los enterovirus, los coronavirus y los adenovirus también infectan el tubo digestivo, pero tales infecciones suelen ser típicamente asintomáticas. Algunos enterovirus, sobre todo poliovirus y virus de la hepatitis A, son causas importantes de enfermedad sistémica pero no producen síntomas gastrointestinales.

Generalidades de las infecciones virales cutáneas

Se cree que el epitelio queratinizado de la piel es una barrera resistente e impermeable a la entrada de virus. Sin embargo, unos cuantos virus son capaces de romper esta barrera e iniciar la infección del hospedador (cuadro 30-2). Algunos logran ingresar a través de abrasiones pequeñas de la piel (poxvirus, papilomavirus, virus del herpes simple); otros se introducen por picaduras de artrópodos vectores (arbovirus) u hospedadores vertebrados infectados (virus de la rabia, herpesvirus B) y otros más son inyectados durante transfusiones sanguíneas u otras manipulaciones que implican el uso de agujas contaminadas, por ejemplo en acupuntura y tatuajes (virus de la hepatitis B, VIH).

Unos cuantos agentes permanecen circunscritos y generan lesiones en el sitio de entrada (papilomavirus y molusco contagioso); la mayor parte se disemina a otros sitios. La capa epidérmica carece de vasos sanguíneos y fibras nerviosas, de forma que los virus que infectan las células epidérmicas tienden a permanecer circunscritos. Los virus que se introducen de manera profunda en la dermis tienen acceso a vasos sanguíneos, conductos linfáticos, células dendríticas y macrófagos y casi siempre se diseminan y causan infecciones sistémicas.

Muchos de los exantemas generalizados relacionados con infecciones virales evolucionan porque el virus se disemina a la piel a través del torrente sanguíneo después de la replicación en otro sitio. Tales infecciones se originan por otra vía (p. ej., las infecciones por virus del sarampión ocurren a partir del aparato respiratorio) con diseminación hematógena de la piel y formación de exantema.

Las lesiones virales en los exantemas se clasifican como máculas, pápulas, vesículas o pústulas. Las máculas son causadas por dilatación local de los vasos sanguíneos de la dermis y progresan a pápulas si hay edema e infiltración celular en el área. Las vesículas se presentan si la epidermis se torna focalmente separada, y se convierten en pústulas si la respuesta inflamatoria suministra leucocitos polimorfonucleares a la lesión. Esto se continúa con ulceración y formación de costra. Los exantemas hemorrágicos y petequiales aparecen cuando hay afectación más intensa de los vasos de la dermis.

Las lesiones cutáneas casi nunca participan en la transmisión viral. El virus infeccioso no se disemina a partir del exantema maculopapular del sarampión o de los exantemas relacionados con infecciones por arbovirus. Por el contrario, las lesiones cutáneas son importantes en la diseminación del poxvirus y el virus del herpes simple. Las partículas virales infecciosas se encuentran presentes en títulos altos en el líquido de los exantemas vesicopustulares capaces de iniciar la infección por contacto directo con otros hospedadores. Sin embargo, incluso en estos casos, se cree que los viriones presentes en las secreciones bucofaríngeas pueden ser más importantes para la transmisión de la enfermedad que las lesiones cutáneas.

Generalidades de las infecciones virales del sistema nervioso central

Los virus logran el acceso al encéfalo por dos vías: a través del torrente sanguíneo (diseminación hematógena) y por fibras nerviosas periféricas (diseminación neuronal). El acceso a través de la sangre puede ocurrir por la proliferación a través del endotelio de los vasos cerebrales de pequeño calibre, por transporte pasivo a través del endotelio vascular y por el paso a través del plexo coroideo hacia el líquido cefalorraquídeo o por el transporte en monocitos, leucocitos o linfocitos infectados. Después que se atraviesa la barrera hematoencefálica, es posible la diseminación más amplia a través del encéfalo y de la médula espinal. Hay cierta correlación entre el nivel de viremia logrado por los virus neurotrópicos transmitidos a través de la sangre y la invasión del tejido nervioso.

La otra vía de acceso al SNC es a través de los nervios periféricos. Los viriones pueden ser captados en un nervio sensorial o en una terminal motora y desplazarse a lo largo de los axones, a través de los espacios endoneurales o por infección de las células de Schwann. El herpesvirus viaja en axones para alcanzar la raíz dorsal de los ganglios nerviosos.

Las vías de diseminación no son mutuamente excluyentes y un virus puede utilizar más de un método. Muchos virus, los cuales incluyen herpesvirus, togavirus, flavivirus, enterovirus, rabdovirus, paramixovirus y bunyavirus pueden infectar el SNC y ser causa de meningitis, encefalitis o ambos. La encefalitis generada por el virus del herpes simple es la fuente más común de encefalitis esporádica en seres humanos.

Las reacciones patológicas a las infecciones virales citocidas del SNC incluyen necrosis, inflamación y fagocitosis por las células de la glía. La causa de los síntomas en otras infecciones del SNC, como la rabia, es poco clara. La encefalitis posinfecciosa que ocurre después de sarampión (alrededor de 1 por cada 1 000 casos) es más rara después de infecciones por rubéola y se caracteriza por desmielinización autoinmunitaria sin degeneración neuronal.

Hay varios trastornos neurodegenerativos poco comunes, denominados infecciones por virus lentos, que son invariablemente letales. Las características de estas infecciones incluyen periodos prolongados de incubación (meses o años), seguidos por el inicio de enfermedad clínica y deterioro progresivo que ocasiona la muerte en semanas o meses; casi siempre el SNC es el afectado. Algunas de tales infecciones, por ejemplo la leucoencefalopatía multifocal progresiva (poliomavirus de JC) en hospedadores inmunodeprimidos y panencefalitis esclerosante subaguda (virus del sarampión) son causadas por virus típicos. En contraste, las encefalopatías espongiformes subagudas, tipificadas por tembladera de las ovejas, son enfermedades

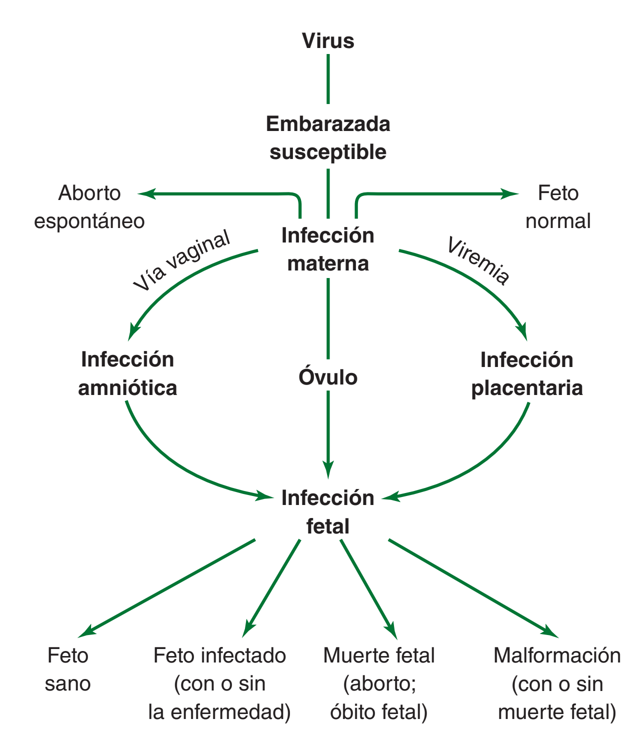


FIGURA 30-7 Infección viral del feto (cortesía de L Catalano y J Server.)

priónicas. En tales infecciones, ocurren cambios neuropatológicos pero no se desencadena una respuesta inflamatoria o inmunitaria.

Generalidades de las infecciones virales congénitas

Pocos virus producen enfermedad en los fetos humanos. La mayor parte de las infecciones virales maternas no ocasiona viremia y afectación fetales. Sin embargo, si el virus cruza la placenta y ocurre infección *in utero*, puede haber un daño grave al feto.

Tres principios participan en la producción de defectos congénitos: 1) la capacidad del virus para infectar a la embarazada y que dicha infección se transmita al feto; 2) la etapa de gestación en la cual ocurre la infección y 3) la capacidad del virus de causar daño al feto de forma directa, por infección del feto o de manera indirecta a través de la infección de la madre que da origen a un entorno fetal alterado (p. ej., fiebre). La secuencia de acontecimientos que pueden ocurrir antes y después de la infección viral del feto se muestra en la figura 30-7.

El virus de la rubéola y el citomegalovirus son a la fecha los principales agentes causantes de defectos congénitos en seres humanos (capítulos 33 y 40). Las infecciones congénitas también pueden aparecer con virus del herpes simple, virus de varicela zóster, hepatitis B, sarampión, parotiditis, VIH, parvovirus y algunos enterovirus (cuadro 30-6).

Las infecciones *in utero* pueden ocasionar muerte fetal, parto prematuro, retraso del crecimiento intrauterino o infección posnatal persistente. Tal vez surjan malformaciones del desarrollo, las cuales incluyen anomalías cardiacas congénitas, cataratas, sordera, microcefalia e hipoplasia de las extremidades. La infección y multiplicación virales pueden destruir con rapidez células fetales en división o alterar la función celular. Los virus líticos, como el herpes simple, en ocasiones producen muerte fetal. Es posible que los virus menos citolíticos, como el de la rubéola, reduzcan la tasa de división celular. Si esto ocurre durante una fase crítica en el desarrollo de órganos, quizá surjan defectos estructurales y anomalías congénitas.

CUADRO 30-6 Adquisición de infecciones virales perinatales importantes

Virus	Frecuencia del tiempo de infección: Prenatal (*in utero*)	Al nacimiento (durante el parto)	Posnatal (después del parto)	Incidencia neonatal (por 1 000 nacidos vivos)
Rubéola	+	–	Poco frecuente	0.1 a 0.7
Citomegalovirus	+	++	+	5 a 25
Herpes simple	+	++	+	0.03 a 0.5
Varicela zóster	+	Poco frecuente	Poco frecuente	Poco frecuente
Hepatitis B	+	++	+	0 a 7
Enterovirus	+	++	+	Poco frecuente
VIH	+	++	+	Variable
Parvovirus	+	–	Poco frecuente	Poco frecuente

Muchos de los mismos virus pueden producir enfermedades graves en el recién nacido (cuadro 30-6). Tales infecciones en ocasiones se adquieren de la madre durante el parto por secreciones genitales contaminadas, heces o sangre. Con menor frecuencia, las infecciones se adquieren durante las primeras semanas de vida (posnatales) por fuentes maternas, miembros de la familia, personal hospitalario o transfusiones sanguíneas. El VIH puede ser transmitido por la leche materna si la madre está infectada.

Efecto de la edad del hospedador

La edad del hospedador es un factor en la patogenicidad viral. En recién nacidos, a menudo se producen enfermedades más graves. Además de la maduración de la respuesta inmunitaria con la edad, parece haber cambios relacionados con la edad en la susceptibilidad de ciertos tipos celulares a la infección viral. Las infecciones virales por lo común ocurren en todos los grupos de edad, pero tienen mayor efecto en diferentes momentos de la vida. Los ejemplos incluyen la rubéola, que es más grave durante el embarazo; el rotavirus, que es más virulento en lactantes y la encefalitis de San Luis que genera mayor gravedad en individuos de edad avanzada.

Diagnóstico de infecciones virales

Se conocen varias técnicas por las cuales se diagnostican las infecciones virales (figura 30-8) (capítulo 47). Los métodos de detección antigénica rápida utilizan anticuerpos monoclonales específicos de virus para la detección. El ácido nucleico o las pruebas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizan

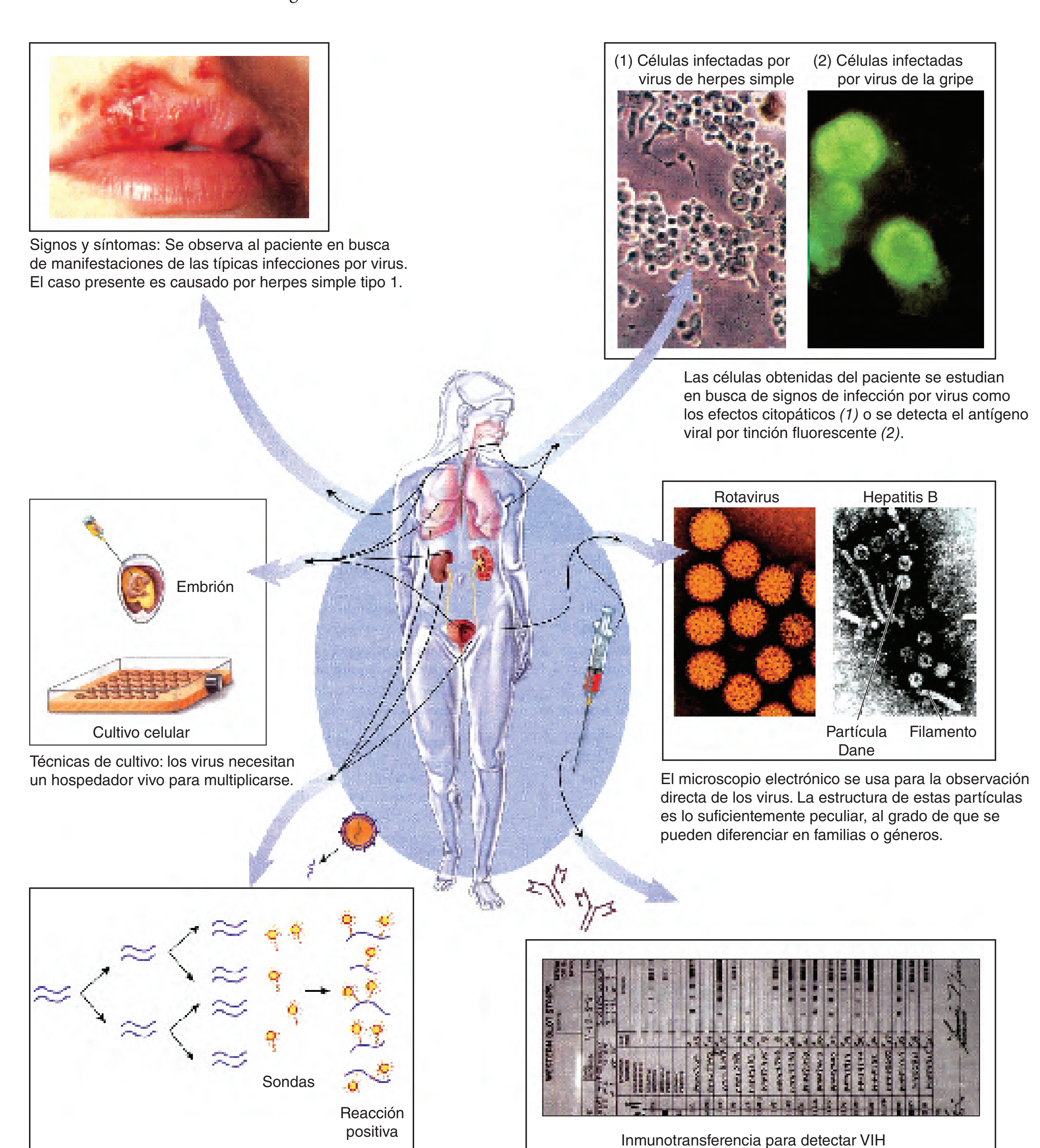


FIGURA 30-8 Resumen de métodos usados para diagnosticar infecciones virales. Las técnicas de detección de antígeno y de ácido nucleico se utilizan sobre todo para el diagnóstico, porque sus resultados se obtienen a muy breve plazo. (Reproducida con autorización de Talaro KP: *Foundations in Microbiology: Basic Principles*, 6a. ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

cebadores específicos y sondas para detectar ácido nucleico viral. Las pruebas de PCR pueden multiplicarse, lo que permite la detección de múltiples virus a la vez. El cultivo de virus y las pruebas serológicas para respuestas específicas de anticuerpo suministran resultados con lentitud pero son útiles en epidemiología e investigación. En el futuro cercano, la tecnología basada en ácido nucleico que utiliza PCR múltiple automatizada, microarreglos de alta densidad y secuenciación profunda probablemente cambiarán los enfoques del diagnóstico viral. Debido a que hay más bien pocos tratamientos antivirales dirigidos, el conocimiento del agente viral infectante específico por lo general no altera el tratamiento del paciente, pero puede ser útil para determinar el pronóstico y para el manejo del paciente.

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES VIRALES

Quimioterapia antiviral

A diferencia de los virus, las bacterias y los protozoarios no dependen de los mecanismos celulares del hospedador para su replicación, de forma que los procesos específicos para estos microorganismos proporcionan objetivos para la creación de antibióticos y antiprotozoarios. Los virus son parásitos intracelulares obligados, por lo tanto, los fármacos antivirales deben ser capaces de inhibir de manera selectiva funciones virales sin dañar al hospedador, lo cual dificulta la creación de tales fármacos. Otra limitación es que ocurren varias rondas de replicación viral durante el periodo de incubación y los virus se han diseminado antes que aparezcan síntomas, lo que hace que la farmacoterapia en ese momento sea relativamente ineficaz.

Existe la necesidad de antivirales activos contra virus para los cuales no se cuenta con vacunas o éstas no son muy eficaces; esto último quizá por la presencia de múltiples serotipos (p. ej., rinovirus) o por los virus en cambio constante (p. ej., gripe, VIH). Los antivirales pueden utilizarse en el tratamiento de infecciones establecidas cuando las vacunas ya no son eficaces; asimismo, son necesarios para reducir la morbilidad y la pérdida económica por infecciones virales y para el tratamiento del número creciente de individuos con inmunodepresión, quienes se encuentran en riesgo alto de desarrollar enfermedades.

Los estudios de virología molecular están teniendo éxito para identificar funciones virales específicas que pueden servir como objetivo para el tratamiento antiviral. Las fases durante las infecciones virales que pueden ser "bloqueadas" incluyen el adosamiento del virus a las células hospedadoras, la "liberación" al citoplasma del genoma viral, la síntesis de ácidos nucleicos del virus, la traducción de proteínas virales y el ensamblaje y la liberación de los viriones hijos. Ha sido muy difícil desarrollar antivirales que puedan distinguir entre procesos replicativos virales y del hospedador, pero se han desarrollado fármacos exitosos, en particular para infecciones crónicas (p ej., VIH, hepatitis C). Se han desarrollado componentes valiosos en el tratamiento de enfermedades virales (cuadro 30-7). Los mecanismos de acción varían con los antivirales y pueden dirigirse a la actividad enzimática de las proteínas virales o bloquear la interacción entre hospedador y proteína viral. Algunos fármacos deben ser activados por enzimas en la célula antes que puedan actuar como un inhibidor de la replicación viral; los fármacos más selectivos se activan por una enzima codificada por el virus en la célula infectada.

Para minimizar la aparición de variantes virales farmacorresistentes, reducir la toxicidad del fármaco, diseñar antivirales más específicos basados en la comprensión molecular de la estructura de otras dianas virales y desarrollar antivirales para virus contra los cuales en la actualidad no existen fármacos, se requiere trabajo futuro.

A. Análogos nucleosídicos y nucleotídicos

La mayor parte de antivirales disponibles son análogos nucleosídicos. Inhiben la replicación de ácido nucleico mediante inhibición de polimerasas virales esenciales para la replicación del ácido nucleico. Además algunos análogos se incorporan al ácido nucleico como terminadores de cadena y bloquean síntesis adicional.

Los análogos pueden inhibir las enzimas celulares, al igual que las enzimas codificadas por el virus. Los análogos más efectivos son aquellos que tienen la capacidad de inhibir con especificidad enzimas codificadas por el virus, con inhibición mínima de enzimas análogas de las células del hospedador. Dadas las elevadas tasas de mutación, las variantes virales resistentes al fármaco por lo general aumentan con el tiempo, algunas veces completamente rápido. El empleo de combinaciones de fármacos antivirales puede hacer lento el surgimiento de variantes resistentes (p. ej., tratamiento con "fármaco triple" utilizado para tratar infecciones por VIH).

B. Inhibidores de transcriptasa inversa

Los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos actúan al unirse de manera directa a la transcriptasa inversa codificada por el virus e inhiben su actividad. Sin embargo, surgen con rapidez mutantes resistentes, lo cual lo hace útil sólo en el contexto del tratamiento con múltiples fármacos.

C. Inhibidores de la proteasa

Los inhibidores de la proteasa fueron diseñados primero por modelos computacionales como agentes peptidomiméticos que encajan en el sitio activo de la enzima proteasa de VIH. Tales fármacos inhiben la proteasa viral que se requiere en la etapa tardía del ciclo replicativo para dividir los precursores polipeptídicos virales *gag* y *gag-pol* para formar a su vez el núcleo maduro del virión y activar la transcriptasa inversa que se utilizará en la siguiente ronda de infección. Los inhibidores de la proteasa se han utilizado con éxito en el tratamiento de las infecciones por VIH y por virus de la hepatitis C.

D. Inhibidores de la integrasa

Los inhibidores de la integrasa de VIH bloquean la actividad de la integrasa viral, una enzima fundamental en la replicación del VIH. El ciclo vital no puede continuar sin integración del DNA codificado por el virus en el cromosoma del hospedador. En 2007 se aprobó el primer inhibidor de la integrasa, el raltegravir.

E. Inhibidores de la fusión

Los inhibidores de la fusión del VIH actúan mediante quebrantamiento de la fusión de la cubierta viral con la membrana

CUADRO 30-7 Ejemplos de fármacos antivirales utilizados para el tratamiento de infecciones virales

Fármaco	Análogo nucleósido	Mecanismo de acción	Espectro viral
Aciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpes simple, varicela zóster
Adefovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	HBV
Amantadina	No	Impide la pérdida de la cubierta viral	Gripe A
Boceprevir	No	Inhibidor de la proteasa del HCV	HCV
Cidofovir	No	Inhibidor de la polimerasa viral	Citomegalovirus, herpes simple, poliomavirus
Didanosina (ddI)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Entecavir	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	HBV
Foscarnet	No	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, VIH-1, HBV
Enfuvirtide	No	Inhibidor de la fusión de VIH (impide la entrada viral)	VIH-1
Ganciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Citomegalovirus
Indinavir	No	Inhibidor de la proteasa de VIH	VIH-1, VIH-2
Interferón (interferón pegilado)	No	Activador de la respuesta imunitaria	HCV, HBV, otros
Lamivudina (3TC)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HBV
Lopinavir	No	Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1
Maraviroc	No	Inhibidor de la entrada (impide la unión a CCR5)	VIH-1
Nevirapina	No	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1
Oseltamivir	No	Inhibidor de la neuraminidasa viral	Gripes A y B
Raltegravir	No	Inhibidor de la integrasa	VIH-1
Ribavirina	Sí	Al parecer bloquea la cubierta de mRNA viral	Virus sincicial respiratorio, gripes A y B, fiebre Lassa, hepatitis C, otros
Ritonavir	No	Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1, VIH-2
Saquinavir	No	Inhibidor de la proteasa del VIH	VIH-1, VIH-2
Simeprevir	Sí	Inhibidor de la proteasa del HCV	HCV
Sofosbuvir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	HCV
Estavudina (d4T)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Telaprevir	No	Inhibidor de la proteasa del HCV	HCV
Telbivudina	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	HBV
Tenofovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	HBV
Trifluridina	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpes simple, citomegalovirus, vaccinia
Valaciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus
Vidarabina	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, vaccinia, HBV
Zalcitabina (ddC)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HBV
Zidovudina (AZT)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HTLV-1

HBV, virus de hepatitis B; HCV, virus de hepatitis C; VIH-1, VIH-2, virus de inmunodeficiencia humana de tipos 1 y 2; HTLV-1, virus linfotrópico de linfocitos T humanos de tipo 1; mRNA, RNA mensajero.

celular, lo que impide la infección celular. El agente prototípico, enfuvirtida, es un péptido que se une a gp41 y bloquea el cambio conformacional necesario que inicia la fusión a la membrana.

F. Otros tipos de antivirales

Se ha demostrado que bajo determinadas condiciones una cantidad de otros tipos de compuestos tienen alguna actividad antiviral.

La **amantadina** y **rimantadina** inhiben específicamente al virus A de la influenza mediante bloqueo de la liberación del material genético viral (descapsidación). Para que tengan un efecto significativo deben administrarse en etapas muy iniciales de la infección.

Oseltamivir es un inhibidor de la neuraminidasa que impide la liberación de partículas virales de influenza de células infectadas.

El **foscarnet** (ácido fosfonofórmico) es un análogo orgánico del pirofosfato inorgánico. Inhibe de manera selectiva las polimerasas y transcriptasas inversas del DNA en el sitio de unión del pirofosfato.

Acyclovir es un análogo de la guanosina que inhibe la DNA polimerasa y se usa para tratar infecciones por virus del herpes y de varicela-zóster. El profármaco valacyclovir es una versión esterificada que puede ingerirse y que al ser metabolizada se convierte en acyclovir.

El **ganciclovir** es un inhibidor de la DNA polimerasa nucleosídica activo contra CMV, cuya especificidad viene de la fosforilación por cinasas específicas de virus sólo en células viralmente infectadas. El valganciclovir es el profármaco ingerible de que se dispone para obtener el ganciclovir.

Vacunas de virus

El propósito de las vacunas de virus es utilizar la respuesta inmunitaria del hospedador para la prevención de enfermedades virales. Varias vacunas han demostrado ser muy eficaces para reducir la incidencia de la enfermedad viral (figura 30-9). La vacunación es el método más rentable para la prevención de infecciones virales graves.

A. principios generales

La inmunidad a la infección viral se basa en la aparición de una respuesta inmunitaria a antígenos específicos localizados en la superficie de partículas virales o de células infectadas por virus. Para los virus envueltos, los antígenos importantes son las glucoproteínas de superficie. Los animales infectados pueden desarrollar anticuerpos contra las proteínas de la región central del virión o contra proteínas no estructurales relacionadas con la replicación viral, pero se cree que la respuesta inmunitaria es de poca o ninguna utilidad en el desarrollo de resistencia a la infección.

Se cuenta con vacunas para la prevención de varias enfermedades importantes en seres humanos. A la fecha, las vacunas disponibles (cuadro 30-8) se describen en detalle en los capítulos donde se revisan las familias de virus y enfermedades específicas.

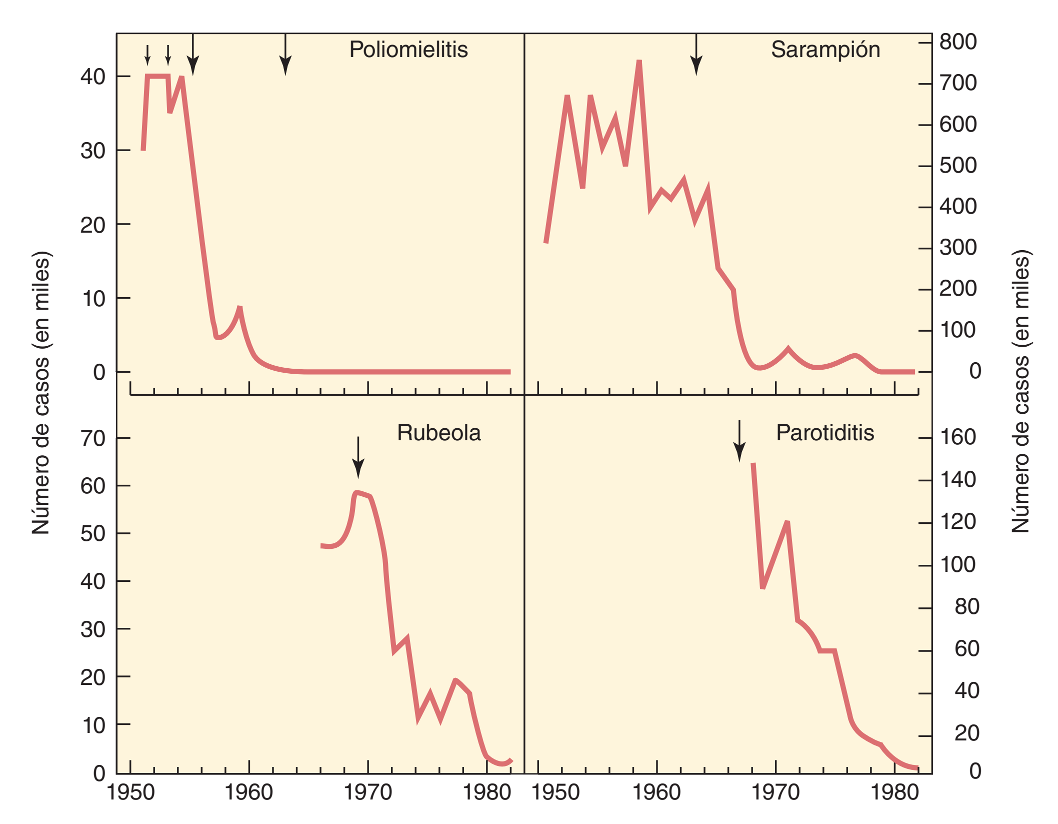


FIGURA 30-9 Incidencia anual de varias enfermedades virales en Estados Unidos. La fecha de introducción de la vacuna se indica por medio de *flechas* (datos tomados de los CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).)

CUADRO 30-8 Vacunas de virus aprobadas en Estados Unidos

Uso	Vacuna	Tipo	Sustrato celular
Común	Hepatitis A	Virus desactivado	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Hepatitis B	Subunidades (HBsAg)	Levaduras (DNA recombinante)
	Gripe A y B	Desactivado	Embrión de pollo
	Gripe A y B	Vivo (intranasal)	Embrión de pollo
	Sarampión	Vivo	Fibroblastos de embrión de pollo
	Parotiditis	Vivo	Embrión de pollo y fibroblastos de embrión de pollo
	Papiloma	Subunidad (L 1)	Levaduras (DNA recombinante)
	Poliovirus (IPV)	Desactivado	Células renales de simio (células Vero)
	Poliovirus (OPV)	Vivo	Células renales de simio
	Rabia	Desactivado	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5) o células diploides de pulmón de fetos de monos rhesus o fibroblastos de pollo
	Rotavirus[a]	Vivo	Células renales de simio (células Vero)
	Rubéola	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Varicela	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Zóster	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
Situaciones especiales	Adenovirus[b]	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Encefalitis japonesa[c]	Desactivado	Encéfalo de ratón
	Viruela	Vivo	Linfáticos de ternera
	Fiebre amarilla[c]	Vivo	Embrión de pollo

[a] La vacuna con rotavirus vivo se retiró del comercio en 1999 por su vinculación con intususcepción en lactantes. La vacuna que se aprobó en el año 2006 era diferente y no se relacionaba con intususcepción.

[b] Utilizada por el ejército estadounidense; ya no se encuentra disponible.

[c] Utilizada para viajes a regiones endémicas.

HBsAg (*hepatitis B surface antigen*), antígeno de superficie de la hepatitis B; IPV (*inactivated poliovirus vaccine*), vacuna de poliovirus inactivado; OPV (*oral poliovirus vaccine*), vacuna de poliovirus oral.

La patogenia de una infección viral particular influye en los objetivos de la inmunoprofilaxis. La inmunidad de la mucosa (IgA local) es importante en la resistencia a la infección por virus que se replican en las mucosas (rinovirus, virus de la gripe, rotavirus) o que invaden a través de la mucosa (papilomavirus). Los virus que se diseminan por medio de viremia (polio, hepatitis A y B, fiebre amarilla, varicela, parotiditis, sarampión) se controlan con anticuerpos IgG séricos. La inmunidad celular también participa en la protección contra infecciones sistémicas (sarampión, herpes).

Existen ciertas características de un virus o de la enfermedad viral que pueden complicar la creación de una vacuna eficaz. La existencia de muchos serotipos, como los rinovirus y un gran número de reservorios animales, como el virus de la gripe hacen difícil la producción de vacunas. Otros obstáculos incluyen la integración del DNA viral en el DNA cromosómico del hospedador (retrovirus) y la infección de las células del sistema inmunitario del hospedador (VIH).

B. Vacunas de virus inactivados

Las vacunas de virus inactivados (virus muertos) se elaboran mediante la purificación de preparados virales con inactivación subsiguiente de la infectividad viral de forma que se produzca daño mínimo a las proteínas estructurales del virus; con frecuencia se utiliza el tratamiento con formol (cuadro 30-9). Para algunas enfermedades, las vacunas de virus inactivados son las únicas disponibles hasta la fecha.

Dichas vacunas se preparan con viriones intactos y casi siempre estimulan el desarrollo de anticuerpos circulantes contra las proteínas de la cubierta del virus, lo cual confiere cierto grado de resistencia a dicha cepa viral.

Las ventajas de las vacunas con virus inactivados son que no hay reversión al estado de virulencia por el virus vacunal y que las vacunas pueden elaborarse cuando no se dispone de virus atenuados aceptables. Las desventajas de vacunas de virus muertos incluyen inmunidad relativamente corta que requiere vacunaciones de refuerzo para mantener la eficacia, reacción deficiente mediada por célula e hipersensibilidad esporádica a infección subsecuente.

C. Vacunas atenuadas de virus vivos

Las vacunas de virus vivos utilizan mutantes virales que se traslapan antigénicamente con virus silvestres, pero se restringen en alguna etapa de la patogenia de la enfermedad (véase cuadro 30-9).

La base genética de la atenuación de la mayor parte de vacunas virales no se conoce debido a que se seleccionaron de manera empírica por pasos seriales en animales o cultivos celulares (por lo general de una especie diferente del hospedador natural). Conforme se aprende más sobre los genes virales

CUADRO 30-9 Comparación de las características de las vacunas de virus desactivados y vivos

Características	Vacuna de virus desactivados	Vacuna de virus vivos
Número de dosis	Varias	Única
Necesidad de adyuvante	Sí	No
Duración de la inmunidad	Más breve	Más prolongada
Eficacia de la protección (simulación más cercana a la infección natural)	Menor	Mayor
Producción de inmunoglobulinas	IgG	IgA e IgG
Producción de inmunidad de mucosas	Escasa	Sí
Produce inmunidad celular	Escasa	Sí
Virus virulentos residuales en la vacuna	Posible	No
Reversión a un estado de virulencia	No	Posible
Excreción de virus vaccinia y transmisión a contactos no inmunes	No	Posible
Interferencia con otros virus en el hospedador	No	Posible
Estabilidad en la temperatura ambiental	Alta	Baja

involucrados en la patogenia de la enfermedad, los virus de la vacuna candidata pueden ser manipulados en el laboratorio por bioingeniería.

Las vacunas atenuadas de virus vivos tienen la ventaja de actuar de manera más parecida a la infección natural con relación a su efecto sobre la inmunidad. Se multiplican en el hospedador y tienden a estimular la producción de anticuerpos en mayor proporción y por más tiempo, inducen una respuesta buena mediada por células e inducen producción de anticuerpos y resistencia al puerto de entrada (figura 30-10). Las desventajas de las vacunas atenuadas de virus vivos incluyen un riesgo de que se restablezca la mayor virulencia, infección grave en hospedadores inmunodeprimidos y almacenamiento y periodo de estabilidad limitados (caducidad) en algunos casos. Adicionalmente agentes adquiridos no reconocidos se han encontrado en reservas de vacunas (p. ej., poliomavirus de simio, SV40; circovirus porcino).

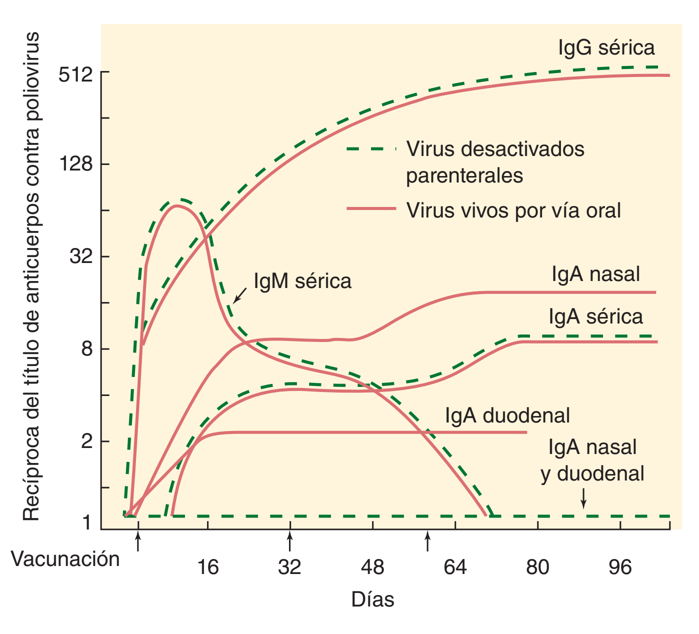


FIGURA 30-10 Respuesta sérica y de secreción de anticuerpos a la administración oral de vacuna de poliovirus vivo atenuado y a la inoculación intramuscular de vacuna de virus de poliomielitis desactivados (Reproducida con autorización de Ogra PL, Fishaut M, Gallagher MR: Viral vaccination via the mucosal routes. *Rev Infect Dis* 1980;2:352 y de Oxford University Press.).

D. Uso apropiado de vacunas

Una vacuna efectiva no protege contra enfermedad sino hasta que se administra en la dosis apropiada a individuos susceptibles. La imposibilidad de hacer que lleguen a todos los sectores de la población esquemas completos de inmunización se refleja en la frecuencia continua de brotes epidémicos de sarampión en poblaciones que se niegan a vacunarse. El término *inmunidad gregaria o de manada* denota el hecho que el riesgo de infección en personas susceptibles en una población disminuye gracias a la presencia de un número adecuado de individuos inmunes; tal efecto se refleja en la disminución notable de la incidencia de enfermedades, incluso si no fueron vacunados todos los sujetos susceptibles. Sin embargo, el "umbral" de inmunidad necesaria para este efecto protector indirecto depende de muchos factores, como la transmisibilidad del agente infeccioso, la naturaleza de la inmunidad inducida por vacunas y la distribución de personas inmunes. Los individuos protegidos por la inmunidad "gregaria" siguen siendo susceptibles a infecciones cuando son expuestos a ellos; tal situación puede ocasionar brotes de enfermedad cuando se acumula un grupo de personas susceptibles, como ocurriría en los brotes de parotiditis en estudiantes universitarios en Estados Unidos.

Ciertas vacunas de virus se recomiendan para su uso en la población general, en tanto que otras se indican sólo para personas con riesgo especial a causa de sus ocupaciones, viajes o hábitos de vida. En general, las vacunas con virus vivos están contraindicadas en embarazadas e individuos inmunodeprimidos.

E. Prospectos a futuro

La biología molecular y las tecnologías modernas se han combinado para aplicar métodos novedosos para el desarrollo de vacunas. Muchos de ellos evitan la incorporación de ácido nucleico viral en el producto final, con lo que se mejora la seguridad de la vacuna. A continuación, se enumeran algunos ejemplos de lo que está ocurriendo en este campo. Aún debe establecerse el éxito final de estos nuevos métodos.

1. Uso de técnicas de DNA recombinante para insertar genes que codifican proteínas de interés en el genoma de un virus no virulento, que puede administrarse en forma de vacuna (p. ej., virus de vaccinia).
2. Incluir en la vacuna sólo aquellos componentes subvirales necesarios para estimular la producción de anticuerpos protectores, con lo que se reduce la aparición de reacciones adversas a la vacuna.
3. Uso de proteínas purificadas aisladas de virus purificados o la síntesis de genes clonados (vacuna de virus de la

hepatitis B recombinante que contenga proteínas virales sintetizadas en células de levadura). La expresión de genes clonados en ocasiones da origen a la formación de partículas virales vacías.

4. Uso de péptidos sintéticos que corresponden a determinantes antigénicos en las proteínas virales, con lo que se evita la posibilidad de reversión a un estado de virulencia puesto que no existe ácido nucleico viral; sin embargo, la respuesta inmunitaria inducida por péptidos sintéticos es mucho más débil que la inducida por proteínas intactas.
5. Desarrollo de vacunas comestibles, método en el cual plantas transgénicas sintetizarían antígenos de virus patógenos, lo que constituiría un método nuevo, rentable para la aplicación de vacunas.
6. Uso de vacunas con DNA desnudo, un método potencialmente simple, poco costoso y seguro, por medio del cual los plásmidos recombinantes portan el gen para la proteína de interés y se inyectan en el hospedador, con lo que el DNA produciría las proteínas que darían origen al estado de inmunidad.
7. La administración de vacunas de forma local estimularía la producción de anticuerpos en el sitio de entrada (como las vacunas en aerosol para los virus que causan enfermedades respiratorias).

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La patogenia viral es un proceso en que un virus infecta a un hospedador.
- Muchos de los virus penetran en sus hospedadores por lo aparatos respiratorio o digestivo.
- Muchas de las infecciones virales no se manifiestan ni generan enfermedad clínica.
- Muchas de las infecciones virales desaparecen por sí solas (autorremitentes) y son eliminadas por el hospedador, aunque otras culminan en infecciones crónicas o persistentes por largo tiempo.
- Las respuestas inmunitarias innata y adaptativa (con los dos componentes humoral y celular) son importantes para que el enfermo se recupere de infecciones virales.
- Los interferones son citocinas de importancia decisiva en la respuesta inmunitaria innata contra virus, del hospedador.
- Los factores virales y del hospedador son los que rigen la culminación de las infecciones virales.
- Algunos virus causan infecciones localizadas en el sitio primario de penetración, en tanto que otros se propagan y ocasionan enfermedad en sitios distantes.
- Unos cuantos virus infectan al feto en el útero y pueden causarle daño grave que culmine en su muerte o en la aparición de malformaciones congénitas.
- Los antivirales eficaces deben inhibir de manera selectiva las funciones virales y no los procesos celulares.
- Las vacunas virales son el método más eficaz para prevenir infecciones virales; las vacunas están disponibles contra varias enfermedades virales serias.
- Están a la disposición tanto vacunas de virus vivos como de virus muertos; cada tipo tiene ventajas y desventajas.
- Tecnologías e investigación nuevas están permitiendo el desarrollo de antivirales y enfoques de inmunización novedosos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los interferones son parte importante de las defensas del hospedador contra infecciones virales. ¿Cuál es el principal modo de acción de los interferones?
   (A) Se encuentran presentes en el suero de individuos sanos, con funciones de vigilancia para infecciones virales.
   (B) Cubren las partículas virales y bloquean su unión a las células.
   (C) Inducen la síntesis de una o más proteínas celulares que inhiben la traducción o la transcripción.
   (D) Protegen a la célula, infectada por virus, que los produce de la muerte celular.
2. Una niña de nueve meses de edad es llevada al servicio de urgencias por fiebre y tos persistente. A la exploración física, se auscultan estertores en el hemitórax izquierdo. En la radiografía de tórax, se observa un infiltrado en el pulmón izquierdo. Se diagnostica neumonía ¿Cuál de las siguientes es la causa más probable?
   (A) Rotavirus
   (B) Rinovirus
   (C) Adenovirus
   (D) Virus sincicial respiratorio
   (E) Coxsackievirus
3. ¿Cuál de los siguientes es un principio fundamental de la causa de enfermedades virales?
   (A) Un tipo de virus induce un solo síndrome de enfermedades.
   (B) Muchas infecciones virales son subclínicas y no producen enfermedad clínica.
   (C) El tipo de enfermedad producida por el virus puede predecirse con base en la morfología del mismo.
   (D) Un síndrome patológico en particular es causado sólo por un virus.
4. La piel es una barrera formidable para la penetración del virus, pero unos cuantos virus son capaces de atravesar esta barrera e iniciar la infección en el hospedador. ¿Cuál de los siguientes es un ejemplo de virus que penetran a través de abrasiones cutáneas?
   (A) Adenovirus
   (B) Rotavirus
   (C) Rinovirus
   (D) Papilomavirus
   (E) Virus de la gripe
5. Un varón de 40 años de edad tiene VIH/sida que se caracteriza por un recuento bajo de células CD4 y carga viral alta. Se inició tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART, *highly active antiretroviral therapy*). Uno de los fármacos en consideración es un análogo nucleósido que inhibe la transcriptasa inversa y tiene actividad contra VIH y HBV. ¿Cuál es el fármaco?
   (A) Aciclovir
   (B) Amantadina
   (C) Ribavirina
   (D) Saquinavir
   (E) Lamivudina
   (F) Fuzeon
6. Con respecto al paciente con VIH/SIDA que se comenta en la pregunta número 5, se elige como segundo fármaco un antiviral que antagoniza el desdoblamiento de proteínas precursoras de la estructura viral. Dicho fármaco es

(A) Aciclovir
(B) Amantadina
(C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon

7. Una mujer de 63 años se hospitaliza para tratamiento de leucemia. Un día después de su hospitalización presenta fiebre, tos, cefalea y mialgias. La paciente comenta que su cónyuge tiene una enfermedad similar que inició unos cuantos días antes. Existe una preocupación importante respecto a un brote epidémico de afección respiratoria por virus en el área hospitalaria de quimioterapia y en los pacientes que se encuentran hospitalizados. Para la profilaxis en el personal y en los pacientes, se elige una amina sintética que inhibe el virus A de la gripe al impedir la pérdida de la cubierta viral. El fármaco es
(A) Aciclovir
(B) Amantadina
(C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon

8. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones describe las ventajas de las vacunas de virus inactivados en comparación con las vacunas de virus vivos atenuados?
(A) Las vacunas de virus inactivados inducen una amplia gama de respuestas inmunitarias en comparación con las vacunas de virus vivos atenuados.
(B) Las vacunas de virus inactivados simulan más estrechamente las infecciones naturales que las vacunas de virus vivos atenuados.
(C) Las vacunas de virus inactivados no conllevan el riesgo de que la vacuna pueda transmitir la enfermedad a los contactos susceptibles.
(D) Las vacunas de virus inactivados son eficaces contra infecciones virales respiratorias porque inducen buena respuesta inmunitaria en las mucosas.

9. ¿Qué tipo de vacuna contra hepatitis B se utiliza a la fecha en Estados Unidos?
(A) Vacuna de péptidos sintéticos.
(B) Vacuna de virus inactivados.
(C) Vacuna de virus vivos atenuados.
(D) Vacuna de subunidades producidas que utilizan tecnología de DNA recombinante.

10. ¿Cuál de las siguientes frases describe con precisión a los anticuerpos neutralizantes de virus?
(A) Se dirigen contra determinantes de las proteínas virales en el exterior de la partícula viral.
(B) Aparecen en el hospedador después de la infección viral antes que el interferón.
(C) Se dirigen contra secuencias del ácido nucleico viral.
(D) Son inducidos sólo por virus que causan la enfermedad.
(E) Tienen poca importancia en la respuesta inmunitaria a la infección viral.

11. Muchos virus utilizan el aparato respiratorio como vía de entrada para el inicio de infecciones. ¿Cuál de los siguientes grupos de virus no utiliza esta vía?
(A) Adenovirus
(B) Coronavirus
(C) Hepadnavirus
(D) Paramixovirus
(E) Poxvirus

12. ¿Cuál de las siguientes vacunas de virus autorizadas se prepara con subunidades mediante la tecnología de DNA recombinante?
(A) Sarampión-parotiditis-rubéola
(B) Varicela
(C) Hepatitis A
(D) Papilomavirus
(E) Rotavirus
(F) Rabia

13. ¿Cuál de los siguientes virus es la causa más frecuente de infecciones neonatales en Estados Unidos?
(A) Rubéola
(B) Parvovirus B19
(C) Hepatitis B
(D) Citomegalovirus
(E) Varicela
(F) VIH

14. De las afirmaciones siguientes respecto de los interferones: ¿cuál es la *menos* exacta?
(A) Los interferones son proteínas que influyen en las defensas del hospedador de muchas formas y, de ellas, una es la inducción de un estado antiviral.
(B) Los interferones son sintetizados sólo por células infectadas por virus.
(C) Los interferones inhiben tipos muy distintos de virus y no sólo el virus que indujo su producción.
(D) Los interferones inducen la síntesis de una ribonucleasa que degrada el mRNA del virus.

15. Las afirmaciones siguientes respecto de las vacunas virales son correctas, *excepto:*
(A) En vacunas elaboradas de virus vivos atenuados, la partícula perdió su capacidad patógena pero conservó la facultad de inducir la aparición de anticuerpos neutralizantes.
(B) En vacunas hechas de virus vivos atenuados, genera preocupación la posibilidad de que se reviertan a la virulencia original.
(C) En el caso de vacunas con virus inactivados, por lo regular se induce inmunidad de las mucosas, de tipo IgA.
(D) Con las vacunas de virus inactivados, la inmunidad protectora depende de modo predominante de la producción de IgG.

Respuestas

1. C	6. D	11. C
2. D	7. B	12. D
3. B	8. C	13. D
4. D	9. D	14. B
5. E	10. A	15. C

BIBLIOGRAFÍA

Bonjardim CA: Interferons (IFNs) are key cytokines in both innate and adaptive antiviral immune responses—and viruses counteract IFN action. *Microbes Infect* 2005;7:569.

Dropulic LK, Cohen JI: Update on new antivirals under development for the treatment of double-stranded DNA virus infections. *Clin Pharmacol Ther* 2010;88:610.

Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, *et al.*: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.

Hawley RJ, Eitzen EM Jr: Biological weapons—a primer for microbiologists. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:235.

McGavern DB, Kang SS: Illuminating viral infections in the nervous system. *Nat Rev Immunol* 2011;11:318.

Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Tabata T: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. *Trends Microbiol* 2005;13:164.

Plotkin SA: Correlates of vaccine-induced immunity. *Clin Infect Dis* 2008;47:401.

Randall RE, Goodbourn S: Interferons and viruses: An interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol* 2008;89:1.

Rathinam VAK, Fitzgerald KA: Innate immune sensing of DNA viruses. *Virology* 2011;411:153.

Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): General recommendations on immunization. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(2).

Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Immunization of health-care personnel. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(7).

Recommended adult immunization schedule—United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012;61(4).

Tregoning JS, Schwarze J: Respiratory viral infections in infants: Causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:74.

Virgin S: Pathogenesis of viral infection. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

CAPÍTULO

31

Parvovirus

Los parvovirus son los virus de animales con DNA más simples. Por la pequeña capacidad de codificación de su genoma, la replicación viral depende de las funciones suministradas por la célula hospedadora o por los virus colaboradores coinfectantes. El parvovirus B19 es patógeno para seres humanos y tiene tropismo para células progenitoras eritroides. Es la causa de eritema infeccioso ("quinta enfermedad"), un exantema común en la infancia; síndrome de poliartralgias-artritis en adultos sanos; crisis aplásica en pacientes con trastornos hemolíticos; anemia crónica en individuos con inmunodepresión y muerte fetal. Se han detectado bocavirus humanos, obtenidos de niños con neumopatías agudas y también en muestras de heces, pero no se ha corroborado su participación en la patogenia de tales cuadros patológicos.

PROPIEDADES DE LOS PARVOVIRUS

En el cuadro 31-1, se enumeran las propiedades importantes de estos microorganismos. Hay parvovirus tanto de replicación autónoma como defectuosos.

Estructura y composición

Son virus icosaédricos, sin envoltura con un diámetro de 18 a 26 nm (figura 31-1). Las partículas tienen un peso molecular de 5.5 a 6.2×10^6, con una densidad de 1.39 a 1.42 g/cm^3. Los viriones son en extremo resistentes a la inactivación; muestran estabilidad a un pH entre 3 y 9 y toleran temperaturas de 56 °C/60 min, pero pueden inactivarse con formol, propiolactona-β y sustancias oxidantes.

Los viriones contienen dos cubiertas proteínicas que son codificadas por una superposición en la secuencia del marco de DNA, de forma que VP2 tiene una secuencia idéntica que la porción carboxilo de VP1. La principal proteína de la cápside, VP2, constituye casi 90% de las proteínas del virión. El genoma consiste en DNA lineal, de una sola cadena (monocatenario) de casi 5 kb. El parvovirus B19 es un virus autónomo que contiene 5 596 nucleótidos, en tanto que AAV-2 es un parvovirus defectuoso que posee 4 680 bases. La cápside de los parvovirus autónomos usualmente contiene cadenas de DNA complementario con el mRNA viral; los virus alterados tienden a rodear las cadenas de DNA de ambas polaridades con la misma frecuencia en viriones separados.

Clasificación

Hay dos subfamilias de Parvoviridae: **Parvovirinae** (que infecta vertebrados) y **Densovirinae** (que infecta insectos). Parvovirinae comprende cinco géneros. El parvovirus B19 humano es el miembro del género *Erythrovirus* que se encuentra de forma más común. Dicho género incluye tres genotipos en seres humanos. El género *Bocavirus* abarca tres bocavirus humanos. El virus de la panleucopenia felina y el parvovirus canino son causas de enfermedades veterinarias graves y se clasifican como miembros del género *Parvovirus,* ya que se aíslan de muchos otros animales. El género *Dependovirus* contiene miembros anómalos y que dependen de virus colaboradores (adenovirus o herpesvirus) para su replicación. Los virus "adenorrelacionados" no se vinculan con ninguna enfermedad.

Replicación de parvovirus

Es difícil cultivar el parvovirus B19 humano. Se sabe que sólo los precursores eritroides primarios asumen una función permisiva en cuanto a la infección por B19. El receptor celular para tal parvovirus es el antígeno P de grupo sanguíneo (globósido), antígeno que se expresa en eritrocitos maduros, precursores eritroides, megacariocitos, células endoteliales, placenta, hígado y corazón fetales, lo cual puede explicar el tropismo hístico muy "selectivo" que muestran los virus B19. Se piensa que el correceptor para la penetración del virus B19 es la integrina α5β1.

Los parvovirus dependen netamente de funciones celulares para su réplica y tal fenómeno, en particular del DNA viral, se produce en el núcleo. Dicho género de virus no tiene la capacidad de estimular a las células en reposo para emprender la síntesis de DNA y por ello infectan por necesidad células en fase de división. En tal proceso, participan una o más DNA polimerasas celulares. Para la réplica viral, se necesita la proteína no estructural NS1. Se conocen dos proteínas de cápside y la réplica del virus culmina en la muerte de la célula.

INFECCIONES POR PARVOVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia e histopatología

La evolución típica de la infección por parvovirus B19 en seres humanos adultos se ilustra en la figura 31-2; este virus se ha implicado como agente causal de varias enfermedades (cuadro 31-2). Las células inmaduras en el linaje eritroide son los principales objetivos para el parvovirus B19 humano. Por lo tanto, los principales sitios de replicación del virus en pacientes adultos parecen ser la médula ósea y algunas células sanguíneas, así como el hígado fetal. La replicación viral causa muerte celular, con

apter 31_Carroll_4R.indd 441 14/04/16

CUADRO 31-1 Propiedades importantes de los parvovirus

Virión: icosaédrico, diámetro de 18 a 26 nm, 32 capsómeros
Composición: DNA (20%), proteínas (80%)
Genoma: DNA monocatenario, lineal, de 5.6 kb, peso molecular de 1.5 a 2.0 millones de dalton
Proteínas: una principal (VP2) y una menor (VP1)
Envoltura: ninguna
Replicación: en el núcleo, depende de las funciones de división de las células hospedadoras
Características sobresalientes: Virus muy simple Patógeno para seres humanos; el virus B19 tiene tropismo por las células progenitoras eritropoyéticas Un género contiene virus con deficiencias en la réplica que obligan a la participación de un virus **"colaborador"**

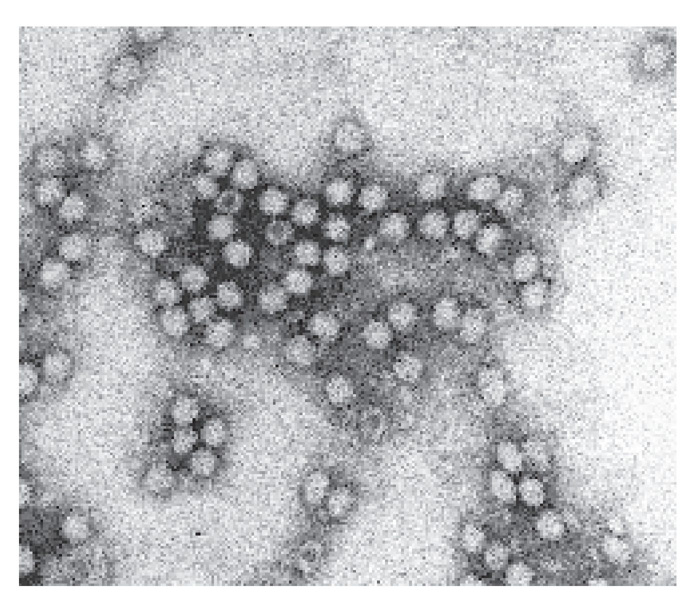


FIGURA 31-1 Micrografía electrónica de partículas de parvovirus (cortesía de FA Murphy y EL Palmer).

interrupción de la producción de eritrocitos. En individuos con inmunodepresión, quizás aparezcan infecciones persistentes por B19, lo cual origina anemia crónica. En casos de muerte fetal, las infecciones crónicas pueden causar anemia grave en el feto.

Un parvovirus sin anomalías requiere la división de la célula hospedadora con el propósito de replicarse y, por lo tanto, las enfermedades conocidas por parvovirus muestran especificidad por los tejidos que afectan (figura 31-3).

Después de infecciones por el virus B19, se generan anticuerpos específicos IgG e IgM contra el virus. En individuos con inmunmodepresiones, ocurren infecciones persistentes por parvovirus, pues hay deficiencia en la síntesis de anticuerpos neutralizantes contra el virus, lo cual produce anemia. Se ha detectado la persistencia de concentraciones bajas de DNA de B19 y menor producción de virus de DNA tipo 2 en sangre, piel, amígdalas palatinas, hígado y tejidos sinoviales de voluntarios con buena respuesta inmunitaria. Los complejos inmunitarios, al menos en parte, median al exantema relacionado con el eritema infeccioso.

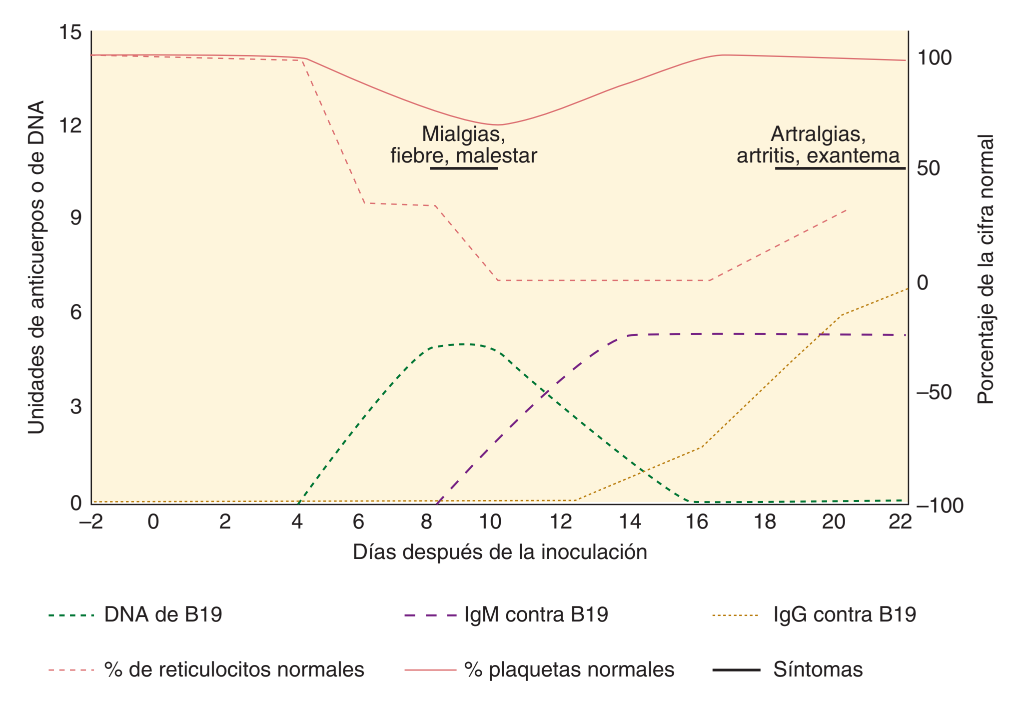


FIGURA 31-2 Manifestaciones clínicas y de laboratorio durante la evolución de la infección por parvovirus B19 humano en voluntarios adultos. La primera fase de la enfermedad, con síntomas similares a los de la gripe, coincide con la viremia (días seis a 12); la segunda fase de la enfermedad consiste en la aparición de exantema casi en el día 18 (Reproducido con autorización de Anderson LJ, Erdman DD: Human parvovirus B19. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. *Clinical Virology*, 3a. ed. Washington DC: ASM Press, 2009;©2009 American Society for Microbiology. Se prohíbe la reproducción o la distribución sin el permiso escrito de Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, *et al.*: Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985;152:257-265.).

apter 31_Carroll_4R.indd 442 14/04/16

CUADRO 31-2 Enfermedades humanas relacionadas con parvovirus B19

Síndrome	Hospedador o enfermedad	Características clínicas
Eritema infeccioso	Niños ("quinta enfermedad") Adultos	Exantema Artralgias-artritis
Crisis aplásica transitoria	Hemólisis subyacente	Anemia aguda grave
Aplasia eritrocítica pura	Inmunodepresiones	Anemia crónica
Hidropesía fetal	Feto	Anemia letal

Modificado con autorización de Young NS: Parvoviruses. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.

Es posible encontrar virus B19 en sangre y secreciones respiratorias de individuos infectados. Se presume que la transmisión ocurre por vía respiratoria. No hay evidencia de eliminación del virus en heces o en orina. Los virus pueden transmitirse por vía parenteral a través de transfusiones sanguíneas o por hemoderivados infectados (concentrados de inmunoglobulinas y de factores de coagulación) y de forma vertical de la madre al feto. La posibilidad de hallar cantidades notablemente altas de B19, y que éste resista tratamientos intensivos que inactivan virus con cubierta, hace necesaria la búsqueda del DNA de B19 en los concentrados de factor de coagulación obtenidos del plasma ya que éstos terminarán contaminados. La prevalencia de anticuerpos contra B19 es mayor en personas con hemofilia que en la población general; sin embargo, se desconoce la concentración mínima de virus en hemoderivados que puede originar infecciones.

No se ha identificado la patogenia de la infección por bocavirus en seres humanos, aunque algunos estudios han vinculado su presencia con neumopatías. Se ha encontrado en muestras obtenidas del aparato respiratorio y se supone que

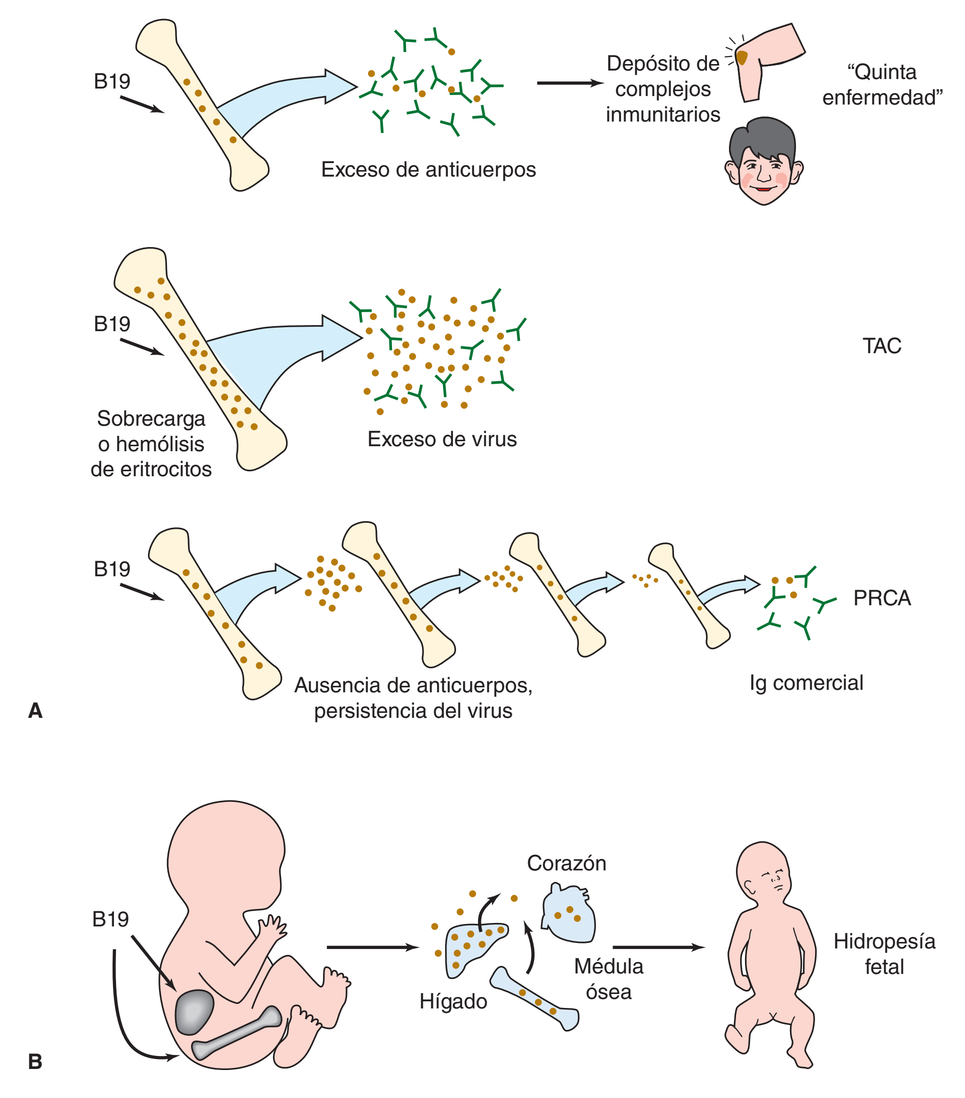


FIGURA 31-3 Patogenia de las enfermedades causadas por parvovirus B19. **A:** En niños y adultos. PRCA (*pure red cell aplasia*), aplasia eritrocítica pura; TAC (*transient aplastic crisis*), crisis aplásica transitoria. **B:** En infecciones fetales (modificada con autorización de Brown KE, Young NS: Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood Rev* 1995;9:176. Copyright Elsevier.).

infecta a este último y se transmite por vía respiratoria. También se ha detectado en heces y en muestras de suero.

Varios parvovirus patógenos de animales se multiplican en las células de la mucosa intestinal y causan enteritis. Congruentes con su naturaleza sumamente estable, se han identificado parvovirus como contaminantes de reactivos de laboratorio.

Manifestaciones clínicas

A. Eritema infeccioso ("quinta enfermedad")

La manifestación más común de infección por parvovirus B19 humano es el eritema infeccioso, también conocido como "quinta enfermedad". Este padecimiento eritematoso es más común en niños en edad escolar y en ocasiones afecta a los adultos. El exantema casi siempre tiene el aspecto típico de "mejillas abofeteadas" acompañado de síntomas generales leves (figura 31-4). Se han descrito casos esporádicos y epidémicos. La afectación articular es una característica prominente en adultos; con frecuencia se alteran las articulaciones de manos y rodillas. Los síntomas simulan artritis reumatoide y la artropatía puede persistir por semanas, meses o años.

El periodo de incubación suele ser de una a dos semanas, pero puede extenderse hasta tres semanas. La viremia ocurre siete días después de la infección y persiste por casi cinco días. Durante el periodo de viremia, el virus se encuentra en muestras de lavado nasal y colutorios, lo que identifica las vías respiratorias altas (con mayor probabilidad la faringe) como el sitio de diseminación viral. La primera fase del trastorno tiene lugar al final de la primera semana; los síntomas son similares a los de un resfrío, con fiebre, malestar, mialgias, escalofríos y prurito. El primer episodio de la enfermedad coincide con viremia y reticulocitopenia, así como con la detección de complejos inmunitarios de IgM-parvovirus. Después de un periodo de incubación de casi 17 días, inicia la segunda fase del padecimiento. La aparición de un exantema facial eritematoso con patrón "de encaje" en las extremidades o el tronco puede acompañarse de síntomas articulares, en especial en adultos. La entidad patológica es de corta duración y el exantema desaparece después de dos a cuatro días, aunque los síntomas articulares pueden persistir por periodos más prolongados. Casi 15 días después de la infección, aparecen anticuerpos específicos IgG.



FIGURA 31-4 Eritema infeccioso ("quinta enfermedad"). Aspecto típico de "mejillas abofeteadas" del exantema facial. (*Fuente:* CDC Public Health Image Library.)

B. Crisis aplásica transitoria

El parvovirus B19 es la causa de crisis aplásica transitoria que puede complicar a la anemia hemolítica crónica, por ejemplo en pacientes con drepanocitosis, talasemias y anemias hemolíticas adquiridas en adultos. La crisis aplásica transitoria puede surgir después del trasplante de médula ósea. El síndrome consiste en la interrupción súbita de la producción de eritrocitos en la médula ósea y se manifiesta con ausencia de precursores eritroides en dicho tejido, acompañada por un rápido progreso de la anemia. La infección reduce la producción de eritrocitos, con decremento de la concentración de hemoglobina en sangre periférica. La interrupción transitoria en la producción de eritrocitos se hace aparente sólo en pacientes con anemia hemolítica crónica debido a la corta vida de los eritrocitos; no sería de esperarse que una suspensión de siete días en la eritropoyesis causara anemia detectable en una persona sana. Pocos individuos con anemia tienen exantema. Los síntomas de crisis aplásica transitoria surgen durante la fase de viremia de la infección.

C. Infección por virus B19 en pacientes inmunodeprimidos

El virus B19 puede generar infecciones persistentes y causar supresión crónica de médula ósea y anemia crónica en individuos con inmunodepresión. La enfermedad se denomina aplasia eritrocítica pura; la anemia suele ser grave y el paciente depende de las transfusiones de sangre. Se ha observado en poblaciones de sujetos con inmunodeficiencia congénita, cánceres, sida y después de trasplante de órganos.

D. Infección por B19 durante el embarazo

Las infecciones maternas con el virus B19 conllevan un riesgo grave para el feto, ya que producen hidropesía y muerte fetal por anemia grave. El riesgo general de la infección por parvovirus humano durante el embarazo es bajo; se presenta muerte fetal en menos de 10% de las infecciones maternas primarias. Con mayor frecuencia, esta última ocurre antes de las 20 semanas de gestación. Hay transmisión intrauterina frecuente del parvovirus humano (se calcula que la transmisión vertical alcanza tasas de 30% o mayores), pero no hay evidencia de que la infección por B19 cause anomalías físicas. Puede surgir transmisión materno-fetal, más a menudo en embarazadas con cargas virales plasmáticas altas.

E. Infecciones del aparato respiratorio y el tubo digestivo por bocavirus humano

Se han detectado estos virus en 1.5 a 11.3% de las muestras de niños de corta edad con infecciones de vías respiratorias. Se observa prevalencia en menores con sibilancias agudas. Sin embargo, a menudo se encuentran bocavirus en infecciones mixtas con otros virus y en personas asintomáticas y, por ello, no hay certeza de que tal agente infeccioso cause enfermedad aguda de vías respiratorias en niños. El virus se ha hallado en alrededor de 3% de muestras de heces en menores

apter 31_Carroll_4R.indd 444 14/04/16

con gastroenteritis aguda. Es alta la tasa de infecciones coexistentes con otros agentes patógenos intestinales, por lo tanto, se desconoce la participación etiológica de los bocavirus en la gastroenteritis.

Diagnóstico por laboratorio

La prueba más sensible es la detección de DNA viral. Los análisis disponibles son la reacción en cadena de polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), la hibridación con sonda de extractos de suero o de tejidos y la hibridación *in situ* de tejidos fijados. La PCR es el análisis más sensible. Se detecta DNA del virus B19 en suero, saliva, células sanguíneas, muestras de tejidos y secreciones respiratorias. Durante infecciones agudas, las cargas virales en sangre pueden alcanzar casi 10^{11} copias de genoma por mililitro. La PCR para B19 puede pasar por alto cepas que no pertenecen a B19 por diferencias en la secuencia. El único análisis disponible hoy día para el bocavirus humano es la PCR. Se ha encontrado DNA de bocavirus en suero, saliva, heces y muestras obtenidas del aparato respiratorio.

Se cuenta con métodos serológicos para conocer la exposición reciente y pasada a parvovirus B19. La detección de anticuerpos IgM contra B19 indica infección reciente; éstos permanecen dos a tres meses después de la infección. Los anticuerpos IgG contra B19 dirigidos contra epitopos conformacionales en VP1 y VP2 persisten por años, aunque las respuestas por anticuerpos contra epitopos lineales disminuyen en unos cuantos meses después de la infección. Quizá no se encuentren anticuerpos en individuos con inmunodeficiencia e infecciones crónicas por B19. En tales casos, las infecciones crónicas se diagnostican al detectar DNA viral.

Los análisis de detección de antígenos pueden identificar cantidades altas de virus B19 en muestras clínicas. Se han utilizado métodos de inmunohistoquímica para identificar antígenos B19 en tejidos fetales y en médula ósea.

Es difícil cultivar los virus B19 y los bocavirus humanos. No se usa el aislamiento del virus para detectar la infección.

Epidemiología

El virus B19 tiene distribución amplia. Tal vez surjan infecciones a lo largo de todo el año, en todos los grupos de edad y en forma de brotes epidémicos o como casos esporádicos. Las infecciones se observan más a menudo como brotes epidémicos en escuelas. La infección por parvovirus es común en niños; más a menudo aparecen anticuerpos entre los cinco y 19 años de edad. Hasta 60% de todos los adultos y 90% de las personas de edad avanzada son seropositivos.

La infección por virus B19 parece transmitirse por el aparato respiratorio. Los virus son estables en el ambiente y las superficies contaminadas también participan en la transmisión. La transferencia entre hermanos y entre niños en escuelas y guarderías constituye la principal vía de transmisión. La fuente de infecciones maternas durante el embarazo a menudo es la madre del niño. Muchas infecciones son subclínicas y se calcula que las tasas de ataque en contactos susceptibles varían de 20 a 50 por ciento.

Se ha documentado la transmisión del virus B19 a partir de pacientes con crisis aplásica al personal de atención de la salud. Los pacientes con crisis aplásica pueden ser infecciosos durante la evolución de la enfermedad, en tanto los individuos con eritema infeccioso probablemente ya no infecten al momento de la aparición del exantema.

No se cuenta con datos epidemiológicos del bocavirus humano. Se ha hallado en niños pequeños y parece tener una distribución mundial.

Tratamiento

El eritema infeccioso y la crisis aplásica transitoria deben recibir tratamiento sintomático. La anemia grave generada por esta última, quizá necesite transfusión sanguínea.

Las preparaciones comerciales de inmunoglobulina contienen anticuerpos neutralizantes contra parvovirus humano. En ocasiones, éstas pueden aminorar infecciones persistentes por B19 en individuos con inmunodepresión y en aquéllos con anemia.

No hay tratamiento para las infecciones por bocavirus humano.

Prevención y control

No existe una vacuna contra el parvovirus humano, pero se han creado buenos prospectos. Hay vacunas eficaces contra parvovirus animales para su uso en gatos, perros y cerdos; no se cuenta con tratamiento antiviral.

Las buenas prácticas higiénicas, como el lavado de manos y no compartir bebidas, deben ayudar a prevenir la diseminación del virus B19 a través de secreciones respiratorias, aerosoles y fómites. Las prácticas estándar para control de infecciones deben seguirse con el propósito de evitar la transmisión de dicho virus a partir de pacientes con crisis aplásica y de individuos con inmunodepresión e infección crónica por virus B19.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los parvovirus son virus pequeños muy sencillos con genomas de DNA monocatenario.
- El virus B19 humano actúa sobre todo en precursores eritroides.
- B19 puede ocasionar eritema infeccioso ("quinta enfermedad"), crisis aplásicas transitorias, aplasia eritrocítica pura e hidropesía fetal (muy a menudo en los comienzos del embarazo).
- Se han vinculado los bocavirus humanos con enfermedades agudas del aparato respiratorio y gastroenteritis en niños, pero no se ha corroborado su participación etiológica.
- El cultivo y la proliferación de B19 y el bocavirus humano son difíciles y el diagnóstico mediante técnicas de laboratorio depende de procedimientos moleculares.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes respuestas describe mejor las propiedades fisicoquímicas de los parvovirus?
   (A) Son partículas de virus envueltos.
   (B) Genoma con DNA monocatenario.
   (C) Su infectividad se inactiva por el tratamiento con éter.

(D) El virión muestra simetría helicoidal.
(E) El virión tiene casi el mismo tamaño que el herpesvirus.

2. Un niño de ocho años de edad sufre en fechas recientes eritema infeccioso. Su madre de 33 años de edad manifestó más tarde artralgias seguidas de artritis dolorosa con hinchazón en las articulaciones pequeñas de ambas manos. Además del aparente tropismo para las articulaciones, ¿para qué tipo celular el parvovirus B19 muestra gran tropismo?
(A) Linfocitos T CD4
(B) Células del túbulo renal
(C) Células eritroides
(D) Células de la glía
(E) Placas de Peyer

3. El niño de ocho años de edad de la pregunta 2 tuvo un trastorno con más de una fase. ¿Cuáles de los síntomas coinciden con la segunda fase de la enfermedad?
(A) Faringodinia
(B) Exantema cutáneo
(C) Cefalea
(D) Diarrea
(E) Tos

4. Un varón de 42 años de edad con VIH/sida acudió con anemia aplásica. Mediante la reacción en cadena de polimerasa, se detectó infección por parvovirus B19 en suero. El paciente quizá adquirió la infección por parvovirus B19 de otra persona. La vía más probable de transmisión es
(A) Por contacto con secreciones respiratorias
(B) Por contacto con un exantema
(C) A través de actividad sexual
(D) A través de transfusiones sanguíneas recientes

5. ¿Cuál de las siguientes es una enfermedad en la que no se ha establecido la participación del parvovirus B19?
(A) Eritema infeccioso ("quinta enfermedad")
(B) Crisis aplásica transitoria
(C) Hidropesía fetal
(D) Hepatitis fulminante

6. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe mejor la replicación del parvovirus B19 humano?
(A) Estimula la proliferación de las células en reposo.
(B) Utiliza el antígeno del grupo sanguíneo P como receptor celular.
(C) Causa con facilidad infecciones persistentes.
(D) La totalidad del ciclo de replicación transcurre en el citoplasma.
(E) La producción de la progenie infecciosa requiere la presencia de un virus colaborador.

7. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más precisa respecto a las preocupaciones por la infección por parvovirus B19 en el ser humano?
(A) El parvovirus B19 se transmite con facilidad a través de relaciones sexuales.
(B) Los pacientes con enfermedad diseminada causada por parvovirus B19 deben tratarse con aciclovir.
(C) El parvovirus B19 no producirá ninguna enfermedad en seres humanos.
(D) No hay vacuna para parvovirus humano.

8. El bocavirus humano es un parvovirus descubierto en fechas recientes. ¿En qué tipo de muestra se detecta con mayor frecuencia?
(A) Orina
(B) Sangre de cordón umbilical
(C) Secreciones respiratorias
(D) Hígado fetal
(E) Médula ósea

9. ¿Cuál de los siguientes se encuentra disponible como tratamiento o medida preventiva para las infecciones por parvovirus B19?
(A) Inmunoglobulinas comerciales
(B) Vacunas que contienen antígenos virales recombinantes VP2.
(C) Trasplante de médula ósea
(D) Fármacos antivirales que impiden la interacción entre virus y receptor.

10. *Erythrovirus* y *Bocavirus* humanos comparten las características siguientes, excepto una:
(A) Son partículas virales pequeñas sin cubierta.
(B) Es difícil su cultivo.
(C) Causan anemia.
(D) Tienen distribución mundial.
(E) No existe vacuna contra ellos.

Respuestas

1. B	4. A	7. D	10. C
2. C	5. D	8. C	
3. B	6. B	9. A	

BIBLIOGRAFÍA

Allander T, Jartti T, Gupta S, *et al.*: Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007;44:904.

Corcoran A, Doyle S: Advances in the biology, diagnosis, and host-pathogen interactions of parvovirus B19. *J Med Microbiol* 2004;53:459.

Faisst S, Rommelaere J (editors): *Parvoviruses: From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses*. Karger, 2000.

Magro CM, Dawood MR, Crowson AN: The cutaneous manifestations of human parvovirus B19 infection. *Hum Pathol* 2000;31:488.

Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, *et al.*: Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:7450.

Saldanha J, Lelie N, Yu MW, *et al.*: Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2002;82:24.

Servant-Delmas A, Lefrère JJ, Morinet F, Pillet S: Advances in human B19 erythrovirus biology. *J Virol* 2010;84:9658.

Wang K, Wang W, Yan H, *et al.*: Correlation between bocavirus infection and humoral response, and co-infection with other respiratory viruses in children with acute respiratory infection. *J Clin Virol* 2010;47:148.

CAPÍTULO

32

Adenovirus

Los adenovirus se pueden replicar y producir enfermedades en los aparatos respiratorio, digestivo y urinario, así como en el ojo. Muchas infecciones por adenovirus son subclínicas y el virus puede persistir en el hospedador durante meses. Alrededor de 33% de los 51 serotipos humanos conocidos originan la mayoría de los casos de adenovirosis humanos. Algunos tipos sirven como modelos para provocar cáncer en animales. Los adenovirus conforman sistemas muy valiosos para estudios moleculares y bioquímicos de los procesos que tienen lugar en las células eucariotas; también constituyen vectores útiles en técnicas de genoterapia.

PROPIEDADES

En el cuadro 32-1, se presentan las características importantes de este tipo de virus.

Estructura y composición

Los adenovirus tienen un diámetro de 70 a 90 nm y muestran una simetría icosaédrica con cápsides que constan de 252 capsómeros. No tienen envoltura. Entre los virus icosaédricos, los adenovirus tienen la singularidad de contar con una estructura denominada "fibra" (que se proyecta desde cada uno de los 12 vértices) o bases de pentona (figuras 32-1 y 32-2). El resto de la cápside consta de 240 capsómeros de hexonas. Las hexonas, las pentonas y las fibras constituyen los principales antígenos de adenovirus importantes en la clasificación de los virus.

El genoma de DNA (26 a 45 kbp) es lineal y bicatenario. El contenido de GC de DNA es el más bajo (48 a 49%) en los adenovirus del grupo A (tipos 12, 18 y 31), que corresponden a los más oncógenos, y llega a 61% en otros tipos; el anterior constituye uno de los criterios para agrupar microorganismos aislados en seres humanos. La proteína codificada del virus A está ligada por enlaces covalentes a cada extremo 5' del genoma lineal. El DNA puede aislarse de una forma infecciosa y la relativa infecciosidad de ese DNA se reduce por lo menos 100 veces si se retira la proteína terminal mediante proteólisis. El DNA está condensado en el centro del virión; una proteína codificada por el virus, el polipéptido VII (figura 32-2B), es importante para formar la estructura central.

Se estima que existen 11 proteínas de viriones. En la figura 32-2B, se muestran sus posiciones estructurales en el virión. Los capsómeros de hexona y pentona son los principales componentes en la superficie de la partícula del virus. Hay epitopos específicos de grupo y de tipo en los polipéptidos de hexona y fibra. Todos los adenovirus humanos muestran esta antigenicidad común de la hexona. Las pentonas se encuentran en los 12 vértices de la cápside y tienen fibras que se proyectan a partir de ella. La base de pentona posee una actividad parecida a la de una toxina que produce aparición rápida de efectos citopáticos y desprendimiento de las células de superficie, en la cual están creciendo. Otro antígeno reactivo de grupo se pone de manifiesto por la base de pentona. Las fibras contienen antígenos específicos que son importantes en la serotipificación. Las fibras se relacionan con una actividad hemaglutinante. Puesto que la hemaglutinina es específica, suelen utilizarse pruebas de inhibición de la hemaglutinación para tipificar las cepas. Sin embargo, es posible recuperar cepas que son recombinantes y dan reacciones discordantes en los análisis de neutralización e inhibición de la hemaglutinación.

Clasificación

Se han obtenido adenovirus de una amplia variedad de especies y se han agrupado en cinco géneros. Todos los adenovirus humanos se clasifican en el género *Mastadenovirus*. Se han aislado por lo menos 57 tipos antigénicos distintos de seres humanos y muchos otros tipos de diversos animales.

Los adenovirus humanos se dividen en siete grupos (A a G) con base en sus propiedades genéticas, físicas, químicas y biológicas (cuadro 32-2). Los adenovirus de un determinado grupo tienen fibras de una longitud característica, manifiestan una homología de DNA considerable (> 85%, en comparación con < 20% de los miembros de otros grupos) y muestran capacidades similares para aglutinar eritrocitos de monos o de ratas. Los miembros de un determinado grupo de adenovirus se parecen entre sí en el contenido de guanina-más-citosina de su DNA y en su potencial para producir tumores en roedores recién nacidos. Es importante que los virus de un grupo tiendan a comportarse de modo similar respecto a la diseminación epidemiológica y la relación con enfermedades.

Replicación de los adenovirus

Los adenovirus se replican bien sólo en las células de origen epitelial. El ciclo de replicación se divide de manera súbita en acontecimientos iniciales y tardíos. En la figura 32-3, se resume la expresión regulada de forma cuidadosa de los fenómenos sucesivos que tienen lugar en el ciclo de los adenovirus. La diferenciación entre los acontecimientos iniciales y los tardíos no es absoluta en las células infectadas; los genes iniciales siguen expresándose durante todo el ciclo; algunos genes comienzan

apter 32_Carroll_4R.indd 447 15/04/16

CUADRO 32-1 Propiedades importantes de los adenovirus

Virión: icosaédrico de 70 a 90 nm de diámetro, 252 capsómeros; la fibra se proyecta desde cada vértice	
Composición: DNA (13%), proteína (87%)	
Genoma: DNA bicatenario, lineal, 26 a 45 kbp, unido a proteína en el extremo, infeccioso	
Proteínas: antígenos importantes (hexona, base de pentona, fibras) se relacionan con las principales proteínas externas de la cápside	
Envoltura: ninguna	
Replicación: núcleo	
Características sobresalientes: modelos excelentes para estudios moleculares de procesos de células eucariotas	

su expresión en momentos "intermedios" y los niveles bajos de transcripción génica tardía pueden observarse poco después de la infección.

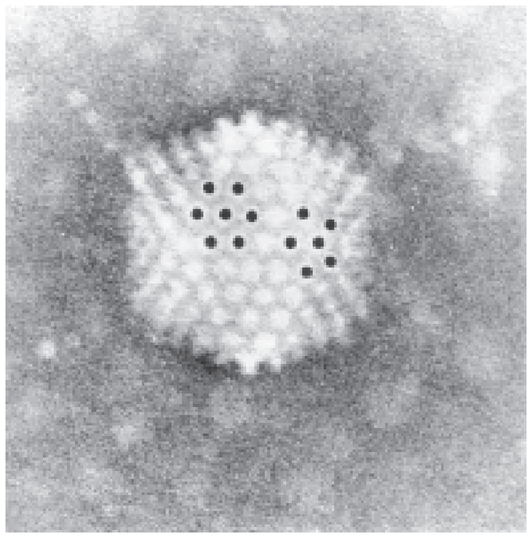
A. Adhesión, penetración y desenvoltura del virus

El virus se adhiere a las células a través de las estructuras de fibra. El receptor de la célula hospedadora para algunos serotipos es el receptor de virus coxsackie y adenovirus (CAR, *coxsackie-adenovirus receptor*), un miembro de la superfamilia de genes de la inmunoglobulina. La interacción de la base de pentona con integrinas celulares después de la adhesión favorece el paso de interiorización. Esta última y la adsorción son pasos diferentes en el proceso de infección por adenovirus, que requieren la interacción de proteínas de fibra y pentonas con diferentes proteínas efectoras de las células. El virus adsorbido es interiorizado hacia los endosomas; la mayor parte de las partículas (~ 90%) se desplaza con rapidez desde los endosomas hacia el citosol (semivida de aproximadamente cinco minutos) mediante un proceso desencadenado por el pH ácido del endosoma. Los microtúbulos quizás intervienen en el transporte de partículas virales a través del citoplasma hacia el núcleo. La desenvoltura comienza en el citoplasma y concluye en el núcleo y la liberación de DNA tal vez se presenta en la membrana nuclear. La desenvoltura es un proceso organizado y secuencial que de manera sistemática degrada las interacciones estabilizadoras que se establecieron durante la maduración de la partícula del virus.

B. Eventos iniciales

Los pasos que ocurren antes del principio de la síntesis de DNA viral se definen como eventos iniciales. Las metas de estos últimos son hacer que la célula hospedadora entre en la fase S del ciclo celular para crear las condiciones que conducen a la replicación viral, expresar las funciones virales que protegen a la célula infectada de los mecanismos de defensa del hospedador y sintetizar los productos génicos virales que se necesitan para la replicación del DNA viral.

Los primeros transcritos ("E") provienen de siete regiones muy separadas del genoma viral y de las dos cadenas de DNA viral. En las células infectadas con adenovirus, se sintetizan más de 20 proteínas iniciales, muchas de las cuales no son estructurales e intervienen en la replicación de DNA viral. El gen inicial E1A es muy importante; se debe expresar para que las otras regiones iniciales se transcriban. La modulación del ciclo celular se logra gracias a los productos del gen E1A. La región inicial E1B codifica proteínas que impiden la muerte celular (apoptosis) que se presenta como consecuencia de las funciones de E1A; esto es necesario para prevenir la muerte celular prematura que afectaría de manera adversa los productos del virus. Las regiones E1A y E1B contienen los únicos genes de adenovirus que intervienen en la transformación celular;


A

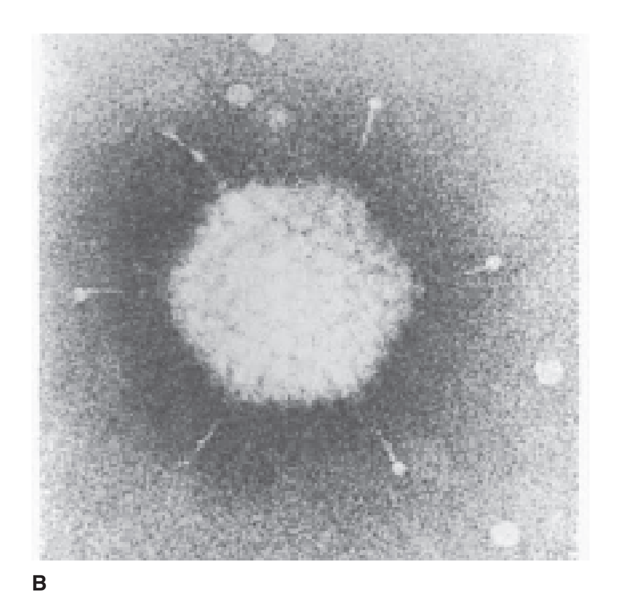

B

FIGURA 32-1 Microfotografías electrónicas de adenovirus. **A:** La partícula viral muestra una simetría cúbica y no tiene envoltura. Están marcados con puntos un capsómero de hexona (rodeado por seis hexonas idénticas) y un capsómero de pentona (rodeado por cinco hexonas). **B:** Obsérvense las estructuras de fibras que se proyectan desde los capsómeros de pentona del vértice (285 000×) (con autorización de Valentine RC, Pereira HG: Antigens and structure of the adenovirus. *J Mol Biol* 1965;13:13).

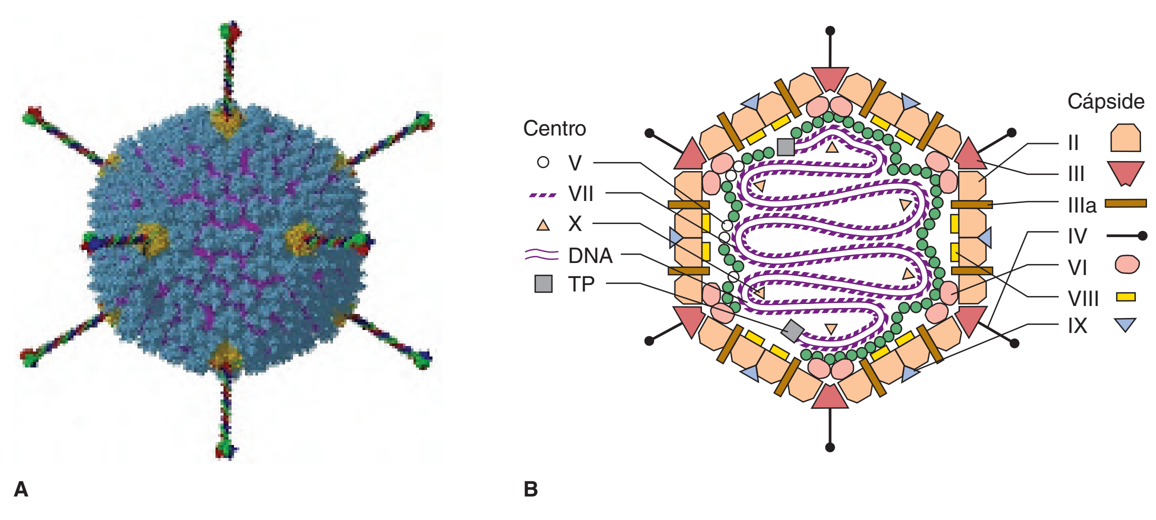


FIGURA 32-2 Modelos del virión de adenovirus. **A:** Reconstrucción tridimensional de la imagen de una partícula de adenovirus intacta en que se advierten fibras que sobresalen de las bases de pentonas (con autorización de Liu H, Wu L, Zhou ZH: Model of the trimeric fiber and its interactions with the pentameric penton base of humans adenovirus by cryo-electron microscopy. *J Mol Biol* 2011;406:764 [Graphical abstract.] Copyright Elsevier.) **B:** Una sección estilizada de la partícula de adenovirus que muestra componentes polipeptídicos y DNA. Ningún corte real del virión icosaédrico contendría todos los componentes. Los componentes del virión se designan por sus números de polipéptidos con la excepción de la proteína terminal (TP, *terminal protein*) (Reproducido con autorización de Stewart PL, Burnett RM: Adenovirus structure revealed by x-ray crystallography, electron microscopy and difference imaging. *Jpn J Appl Phys* 1993;32:1342.)

estos productos génicos se unen a las proteínas celulares (p. ej., pRb, p300, p53) que regulan la progresión del ciclo celular. Las proteínas iniciales están representadas por la proteína fijadora de DNA de 75 kDa que se muestra en la figura 32-3.

C. Replicación del DNA viral y de los eventos tardíos

La replicación del DNA viral tiene lugar en el núcleo. La proteína terminal codificada por el virus unida por un enlace covalente funciona como un cebador para iniciar la síntesis de DNA viral.

Los eventos tardíos ocurren al mismo tiempo que el inicio de la síntesis de DNA viral. El promotor tardío principal controla la expresión de los genes tardíos (“L”) que codifican la síntesis de proteínas estructurales del virus. Hay un solo transcrito primario de gran tamaño (~ 29 000 nucleótidos de longitud) que es procesado por corte y empalme para generar por lo menos 18 diferentes mRNA tardíos. Estos mRNA se agrupan (L1 a L5) con base en la utilización de sitios de adición poli(A) frecuentes. Los transcritos procesados son transportados al citoplasma, donde se sintetizan las proteínas virales.

Los genes del hospedador siguen transcribiéndose en el núcleo en las últimas etapas del curso de la infección, pero se transportan pocas secuencias genéticas del hospedador al citoplasma. Un complejo que afecta al polipéptido E1B de 55 kDa y al polipéptido E4 de 34 kDa inhibe la acumulación citoplásmica de los mRNA celulares y facilita la acumulación de los

CUADRO 32-2 **Esquemas de clasificación de adenovirus humanos**

		Hemaglutinación			Oncogenicidad	
Grupo	Serotipos	Grupo	Resultado	Porcentaje de G + C[a] en DNA	Potencial oncógeno *in vivo*[b]	Transformación de las células
A	12, 18, 31	IV	Ninguno	48 a 49	Alto	+
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55	I	Simio (completo)	50 a 52	Moderado	+
C	1, 2, 5, 6, 57	III	Rata (parcial)	57 a 59	Escaso o nulo	+
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51, 53, 54, 56	II	Rata (completo)	57 a 61	Escaso o nulo[c]	+
E	4	III	Rata (parcial)	57	Escaso o nulo	+
F	40, 41	III	Rata (parcial)	57 a 59	Escaso o nulo	+
G	52	Se desconoce		55	Se desconoce	Se desconoce

[a] Guanina más citosina.

[b] Activación de tumor en hámsteres recién nacidos.

[c] El adenovirus 9 puede activar tumores mamarios en ratas.

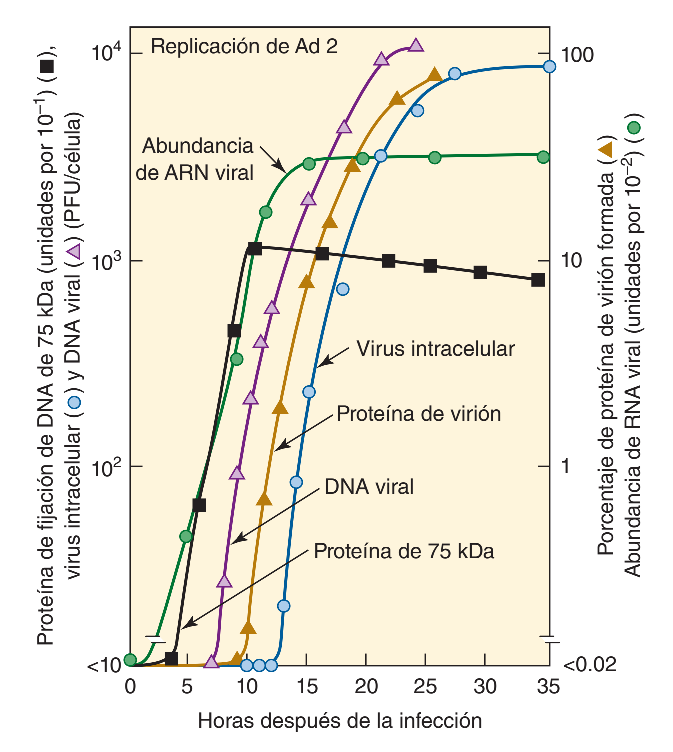


FIGURA 32-3 Evolución del ciclo de replicación del adenovirus. El tiempo transcurrido entre la infección y la primera aparición del virus de progenie es el periodo de eclipse. Obsérvese la regulación secuencial de acontecimientos específicos en el ciclo de replicación del virus. "PFU" significa "unidad formadora de placa" (*plaque-forming unit*), una medida del virus infeccioso (cortesía de M. Green).

mRNA virales, tal vez al reubicar un supuesto factor celular necesario para el transporte de mRNA. Se elaboran cantidades muy grandes de proteínas estructurales virales.

Cabe hacer notar que los estudios con mRNA de hexona de adenovirus llevaron al descubrimiento profundo de que los mRNA eucarióticos casi nunca son colineales con sus genes sino que son productos empalmados de diferentes regiones de codificación en el DNA genómico.

D. Ensamble y maduración viral

La morfogénesis del virión ocurre en el núcleo. Cada capsómero de hexona es un trímero de polipéptidos idénticos. La pentona consta de cinco polipéptidos de base de pentona y tres polipéptidos de fibra. Un "armazón proteínico" codificado por L4 tardío ayuda a la agregación de polipéptidos de hexona, pero no es parte de la estructura final.

Los capsómeros se autoensamblan en cápsides de armazón vacía en el núcleo. El DNA desnudo luego entra en la cápside preformada. Un elemento de DNA de acción en *cis* cercano al extremo izquierdo del cromosoma viral sirve de señal de empaquetamiento, necesaria para el fenómeno de reconocimiento de DNA-cápside. Otra armazón proteínica viral, codificada en el grupo L1, facilita la encapsidación de DNA. Por último, las proteínas centrales precursoras se desdoblan, lo cual permite a la partícula ajustar su configuración y se añaden las pentonas. Una cisteína proteinasa codificada por el virus funciona en algunas escisiones de proteínas precursoras. La partícula madura luego es estable, infecciosa y resistente a las nucleasas. El ciclo infeccioso del adenovirus tarda unas 24 horas. El proceso de ensamble es ineficaz; alrededor de 80% de los capsómeros de hexona y 90% del DNA del virus no se utilizan. No obstante, se generan cerca de 100 000 partículas virales por célula. En la figura 32-2B, se clasifican las proteínas estructurales relacionadas con partículas virales maduras.

E. Efectos del virus sobre los mecanismos de defensa del hospedador

Los adenovirus codifican varios productos génicos que contrarrestan los mecanismos de defensa antiviral del hospedador. Los abundantes y pequeños RNA de VA confieren protección contra el efecto antiviral del interferón al evitar la activación de una cinasa generada por interferón que fosforila e inactiva el factor de iniciación eucariótico 2. Las proteínas de la región E3 del adenovirus, que no son esenciales para el desarrollo del virus en el cultivo de tejidos, inhiben la citólisis de las células infectadas por las respuestas del hospedador. La proteína E3 de gp19-kDa evita el movimiento del antígeno de complejo mayor de histocompatibilidad clase I hacia la superficie celular, protegiendo así a la célula infectada de la lisis mediada por el linfocito T citotóxico. Otras proteínas codificadas por E3 impiden la activación de la citólisis por la citosina factor de necrosis tumoral α.

F. Efectos del virus sobre las células

Los adenovirus son citopáticos para los cultivos de células humanas, sobre todo las células del riñón y de epitelios continuos. El efecto citopático suele consistir en redondez notable, crecimiento y acumulación de células afectadas en racimos parecidos a los de uvas. Las células infectadas no experimentan lisis aun cuando se redondeen y abandonen la superficie de vidrio sobre la cual se desarrollaron.

En las células infectadas con algunos tipos de adenovirus, se observan inclusiones intranucleares redondeadas que contienen DNA (figura 32-4). Estas inclusiones nucleares pueden confundirse con las del citomegalovirus, pero las infecciones por adenovirus no provocan la formación de sincitios ni de células gigantes multinucleadas. Los cambios citológicos no son patognomónicos de los adenovirus, pero son útiles con fines diagnósticos en el cultivo de tejidos y en muestras para biopsia.

Las partículas virales en el núcleo a menudo muestran disposiciones lineales en arreglo cristalino. Las células infectadas con virus del grupo B también contienen cristales que constan de proteína sin ácido nucleico. Las partículas virales permanecen dentro de la célula después de que se completa el ciclo y que ésta muere.

Especies de adenovirus C establecen infecciones latentes en amígdalas y adenoides de niños, de manera predominante en los linfocitos T. Algunas muestras de muchos niños de corta edad contienen DNA viral; sin embargo, éste se detecta con menor frecuencia en tejidos de adolescentes y adultos. Las variedades halladas más a menudo son los adenovirus de tipos 1, 2 y 5. En linfocitos es rara la replicación viral productiva.

Los adenovirus humanos muestran una reducida gama de hospedadores. Cuando se infectan las células de otras especies distintas al ser humano, aquéllos por lo general experimentan

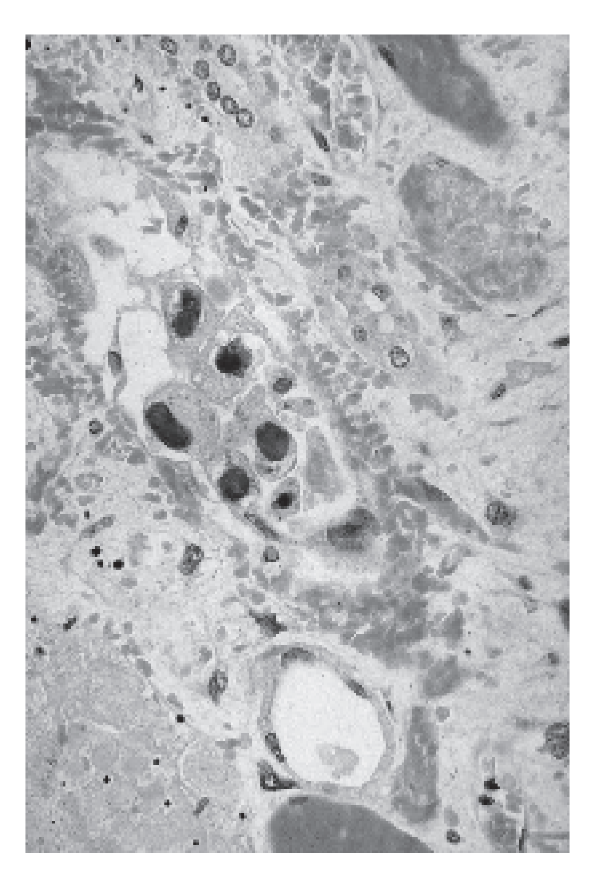


FIGURA 32-4 Características citopatológicas del adenovirus en tejido humano. Células del epitelio tubular con cuerpos de inclusión basófilos en un paciente con nefritis tubulointersticial necrosante (450×). (Cortesía de M. Ito.)

un ciclo de replicación abortiva y no se produce ninguna progenie infecciosa.

Genoterapia

Se están utilizando los adenovirus como vehículos para administrar genes en el tratamiento del cáncer, la genoterapia y los estudios de inmunización genética. Los adenovirus son atractivos en virtud de que los virus con replicación defectuosa recombinantes poseen las ventajas de una gran eficacia en la transducción de muchos tipos de células y altos grados de expresión de genes transducidos a corto plazo; sin embargo, las limitaciones importantes comprenden su gran inmunogenicidad y la gran prevalencia de la inmunidad preexistente en seres humanos a los adenovirus del subgrupo C (los tipos 2 y 5 se utilizan de manera amplia como vectores). Otras limitantes son la expresión de receptor variable (CAR) en diferentes células y la imposibilidad para integrarse en el DNA cromosómico y facilitar la expresión transgénica a largo plazo. Se están realizando investigaciones para el diseño de vectores y técnicas de direccionamiento para superar estas limitaciones.

Un tratamiento antineoplásico novedoso utiliza un adenovirus de replicación competente atenuado que se elaboró para replicarse sólo en células cancerosas específicas. Este “tratamiento oncolítico” tiene como propósito destruir directamente las células tumorales debido a la replicación lítica del virus.

Susceptibilidad animal y transformación de células

La mayoría de los animales de laboratorio no se infecta con facilidad mediante adenovirus humanos, aunque los hámsteres recién nacidos sufren una infección letal con adenovirus tipo 5 y los animales adultos jóvenes permiten la replicación de este último virus en el pulmón. Varios serotipos, sobre todo el 12, 18 y 31, pueden activar tumores cuando se inoculan en hámsteres recién nacidos (cuadro 32-2). Todos los adenovirus pueden transformar células en cultivo desde un punto de vista morfológico, sea cual sea su poder oncógeno *in vivo* (capítulo 43). Sólo una pequeña parte (< 20%) del genoma del adenovirus está presente en la mayoría de las células transformadas.

Los genes transformantes de adenovirus humanos se localizan en la región inicial (E1A y E1B) en el extremo izquierdo del genoma viral. Una excepción es el tipo 9; con el mismo, es necesario el gen *E4* para la oncogénesis mamaria en las ratas. Los estudios de genes transformantes de adenovirus han revelado mecanismos de control del crecimiento celular que están alterados en muchos tipos de células cancerosas.

La naturaleza altamente oncógena del adenovirus tipo 12 puede vincularse con la observación de que un efecto de su región inicial es inactivar la síntesis de los antígenos de histocompatibilidad mayor de clase I (H2 o HLA) en algunas células infectadas y transformadas, lo cual previene así la destrucción por linfocitos T citotóxicos.

Se piensa que los adenovirus no son importantes como elementos oncógenos en seres humanos.

INFECCIONES POR ADENOVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia

Los adenovirus infectan y se replican en células epiteliales de los aparatos respiratorio y urinario, el ojo y el tubo digestivo. No suelen diseminarse más allá de los ganglios linfáticos regionales. Los virus del grupo C persisten como infecciones latentes durante años en las adenoides y las amígdalas palatinas y se eliminan en las heces durante muchos meses después de la infección inicial. De hecho, el nombre “adenovirus” refleja la recuperación de la cepa inicial a partir de extirpaciones de adenoides de seres humanos.

La mayor parte de los adenovirus humanos se replica en el epitelio intestinal tras la ingestión, pero suele originar infecciones leves más que síntomas manifiestos. Las excepciones son los serotipos 40 y 41, que provocan enfermedad del tubo digestivo.

Manifestaciones clínicas

Casi 33% de los serotipos humanos conocidos suele relacionarse con entidades patológicas humanas. Cabe notar que un solo serotipo puede causar diferentes trastornos clínicos y, por lo contrario, que más de un tipo puede generar la misma enfermedad clínica. Los adenovirus 1 a 7 son los tipos más frecuentes en todo el mundo y contribuyen en la mayoría de los casos de enfermedad causada por adenovirus.

Los adenovirus intervienen en casi 5% de las enfermedades respiratorias agudas en niños pequeños, pero contribuyen a mucho menos en los adultos. Casi todas las infecciones son leves y desaparecen de forma espontánea. Los virus en ocasiones originan enfermedad en otros órganos, sobre todo en los ojos y en el aparato digestivo.

A. Enfermedades respiratorias

Los síntomas característicos consisten en tos, congestión nasal, fiebre y disfagia. Este síndrome se manifiesta más a menudo en lactantes y niños, y en él suelen participar virus del grupo C, en particular los tipos 1, 2 y 5. Las infecciones por los tipos 3, 4 y 7 se observan más a menudo en adolescentes y adultos. Estos casos son difíciles de distinguir de otras infecciones respiratorias virales leves que pueden producir síntomas similares.

Se piensa que los adenovirus, sobre todo los tipos 3, 7 y 21, son causa de casi 10 a 20% de las neumonías en la infancia. Se ha comunicado que la neumonía por adenovirus tiene una mortalidad de 8 a 10% en los niños muy pequeños.

En el 2007, se presentó un brote de enfermedad respiratoria grave, que algunas veces fue letal, por una nueva variante del adenovirus 14. Los pacientes afectados eran de todas las edades, incluidos adultos jóvenes sanos.

Los adenovirus constituyen la causa de un síndrome respiratorio agudo entre reclutas militares. Este síndrome se caracteriza por fiebre, faringitis, congestión nasal, tos y malestar, que a veces desencadenan neumonía. Aparece de forma epidémica en reclutas militares jóvenes en condiciones de fatiga, estrés y hacinamiento, poco después del alistamiento. La fuente de esta enfermedad corresponde a los adenovirus tipos 4 y 7 y, a veces, por el tipo 3. Puesto que no se dispone de vacuna, en el decenio de 1990 los militares estadounidenses dejaron de vacunar contra los adenovirus (tipos 4 y 7); esto se acompañó de grandes epidemias que afectaron a millares de conscriptos.

B. Infecciones oculares

La afectación ocular leve puede ser parte de los síndromes respiratorios faríngeos originados por los adenovirus. La fiebre faringoconjuntival tiende a presentarse en brotes epidémicos, como los que ocurren en campos de verano de los niños (“conjuntivitis de la piscina”) y se relacionan con los adenovirus tipos 3 y 7. La duración de la conjuntivitis es de una a dos semanas y el resultado frecuente es el restablecimiento completo sin ninguna secuela duradera.

Una epidemia más grave es la queratoconjuntivitis epidémica, cuya causa corresponde a los tipos 8, 19 y 37. La enfermedad afecta sobre todo a adultos y es muy contagiosa. Los adenovirus pueden seguir siendo viables durante semanas en vertederos y toallas de manos y quizá sean el punto de partida del contagio. La enfermedad se caracteriza por conjuntivitis aguda a la que sigue queratitis que muestra curación casi siempre en un término de dos semanas, pero puede dejar opacidades subepiteliales de la córnea incluso durante dos años. La infección de la córnea por adenovirus produce inflamación por interacción de las cápsides virales con las células del hospedador.

Un estudio realizado en Japón (1990 a 2001) donde el adenovirus tipo 37 es la principal fuente de queratoconjuntivitis epidémica demostró que las mutaciones en el genoma viral tenían lugar de manera cronológica y que determinadas mutaciones se correlacionaban con la epidemia de la enfermedad.

C. Infecciones gastrointestinales

Muchos adenovirus se replican en las células intestinales y se identifican en las heces, pero la presencia de casi todos los serotipos no se relaciona con enfermedad gastrointestinal. Sin embargo, dos serotipos (tipos 40 y 41) se han vinculado como causa con la gastroenteritis infantil y quizás originen cinco a 15% de los casos de gastroenteritis viral en niños de corta edad. Los adenovirus tipos 40 y 41 se hallan en abundancia en las heces diarreicas. Los adenovirus intestinales son muy difíciles de cultivar.

D. Otras enfermedades

Los pacientes inmunodeprimidos pueden padecer diversas infecciones por adenovirus casuales y graves. El problema más frecuente generado por la infección por adenovirus en pacientes que recibieron trasplante abarca las enfermedades respiratorias que pueden evolucionar a neumonía grave o infección generalizada y tal vez sean letales (casi siempre los tipos 1 a 7). Los niños que reciben trasplantes hepáticos pueden manifestar hepatitis por adenovirus en el aloinjerto. Además, los niños con trasplantes cardiacos que presentan infecciones miocárdicas por adenovirus tienen mayor riesgo de pérdida del injerto. Los receptores infantiles de injertos de células madre hematopoyéticas pueden padecer infecciones por gran variedad de tipos de adenovirus. Los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) pueden contraer infecciones por adenovirus, sobre todo en el tubo digestivo.

Es posible que los tipos 11 y 21 provoquen cistitis hemorrágica aguda en niños, sobre todo en varones. Los virus suelen detectarse en la orina de estos pacientes.

Inmunidad

Los adenovirus desencadenan una inmunidad eficaz y duradera contra la reinfección. Esto puede reflejar el hecho de que los adenovirus también infectan ganglios linfáticos regionales y células linfoides en el tubo digestivo. La resistencia a la afectación clínica al parecer tiene una relación directa con la presencia de anticuerpos neutralizantes en la circulación, los cuales quizá persisten de por vida. Los anticuerpos neutralizantes específicos pueden proteger contra los síntomas de la enfermedad, pero tal vez no siempre eviten la reinfección (las infecciones por adenovirus a menudo surgen sin producir enfermedad manifiesta).

Los anticuerpos maternos suelen proteger a los lactantes contra las infecciones respiratorias graves por adenovirus. Los anticuerpos neutralizantes contra uno o más tipos se han detectado en más de 50% de los lactantes de seis a 11 meses de edad. Los adultos sanos normales por lo general tienen anticuerpos contra varios tipos.

Una respuesta de anticuerpo reactivo al grupo, diferente al anticuerpo neutralizante específico, puede cuantificarse mediante pruebas de fijación de complemento, inmunofluorescencia o enzimoinmunoanálisis de adsorción. Los anticuerpos específicos de grupo no confieren protección, disminuyen con el tiempo y no revelan los serotipos de infecciones virales previas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección, aislamiento e identificación del virus

Deben obtenerse muestras de los lugares afectados en las primeras etapas del trastorno para optimizar el aislamiento del virus. Según sea la enfermedad clínica, el virus puede obtenerse de heces u orina o de un exudado faríngeo, conjuntival o rectal. La duración de la excreción de adenovirus varía en diferentes enfermedades: uno a siete días, en las muestras de vías respiratorias de adultos con resfriado común; tres a 14 días, en exudado faríngeo, heces, ojos, en relación con la fiebre faringoconjuntival; dos semanas en muestras obtenidas del ojo, en el caso de la queratoconjuntivitis; tres a seis semanas en muestras de vías respiratorias, faringe y heces de niños con enfermedades del aparato respiratorio; dos a 12 meses en sangre, orina, exudado faríngeo y heces de sujetos inmunodeprimidos.

Para el aislamiento del virus en un cultivo celular, se necesitan células humanas. Las células primarias de riñón embrionario humano son muy susceptibles, pero por lo general no es fácil obtenerlas. Los linajes de células epiteliales humanas establecidas, como HEp-2, HeLa y KB, son susceptibles, pero difíciles de mantener sin degeneración por el largo tiempo (28 días) necesario para detectar algunas cepas naturales de crecimiento lento. Es factible identificar cepas como las de adenovirus mediante las pruebas inmunofluorescentes en las que se utiliza anticuerpo antihexona en células infectadas. Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y de neutralización miden antígenos específicos y pueden usarse para identificar serotipos específicos.

La detección de adenovirus infecciosos puede realizarse de forma rápida al utilizar las técnicas de centrifugación y cultivo. Se centrifugan muestras virales directamente en células de cultivo de tejido; se incuban durante uno a dos días y luego se realizan análisis con anticuerpos monoclonales dirigidos contra un epítopo reactivo de grupo en el antígeno de hexona. Además, las células epiteliales nasales de un paciente pueden teñirse directamente para detectar los antígenos virales.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR, *polimerase chain reaction*) se utiliza de modo sistemático en el diagnóstico de infecciones por adenovirus en muestras hísticas o de líquidos corporales y casi siempre mediante "cebadores" obtenidos de una secuencia viral conservada (p. ej., hexona, VA I) que detecta todos los serotipos. Se han descrito análisis de PCR que utilizan pares de cebadores individuales que están dirigidos a segmentos conservados que envuelven una región hipervariable en el gen de la hexona. El análisis permite encontrar todos los serotipos conocidos de adenovirus humanos y determinar la secuencia del amplicón hace posible la identificación del serotipo. Este método es rápido en comparación con las semanas necesarias para el aislamiento del virus seguido de las pruebas de neutralización. Es común incluir la PCR para adenovirus en los paneles de detección de virus respiratorios. Sin embargo, la susceptibilidad del análisis de PCR puede dar como resultado el hallazgo de adenovirus latente en algunos pacientes.

La caracterización del DNA viral mediante hibridación o con patrones de restricción de la digestión de la endonucleasa identifica una cepa como un adenovirus y hace posible su clasificación. Estos métodos son muy eficaces para los tipos cuyo cultivo es complicado.

Los adenovirus intestinales de cultivo difícil pueden encontrarse mediante el análisis directo de extractos de heces en el microscopio electrónico, enzimoinmunoanálisis de adsorción o pruebas de aglutinación en látex. Se pueden aislar, con dificultad, en una estirpe de células renales embrionarias humanas transformadas con un fragmento de DNA de adenovirus 5 (293 células).

Puesto que los adenovirus tienen la posibilidad de persistir en el intestino y el tejido linfoide durante periodos prolongados y dado que la exacerbación de la eliminación viral es susceptible de desencadenarse debido a otras infecciones, se debe interpretar con precaución la importancia de una detección viral. La obtención de virus de ojo, pulmón o genitales es diagnóstica de una infección activa. El aislamiento del virus de secreciones de la faringe de un paciente con neumopatía puede considerarse relevante para la enfermedad clínica. Los datos de detección viral en heces de sujetos con gastroenteritis no son concluyentes, a menos que se demuestre que es uno de los tipos enteropatógenos; se cuenta con enzimoinmunoanálisis para encontrar de manera específica los serotipos 40 y 41 ya comentados.

B. Estudio serológico

La infección de seres humanos con cualquier tipo de adenovirus estimula un incremento de los anticuerpos fijadores del complemento contra los antígenos del grupo de adenovirus que comparten todos los tipos. La prueba de fijación de complemento es un método que se aplica de manera fácil para detectar la infección por cualquier miembro del grupo de los adenovirus, pero la prueba tiene una baja sensibilidad. Un aumento de cuatro veces o más en la concentración de anticuerpos fijadores de complemento entre los sueros de fase aguda y de fase de convalecencia indica una infección reciente por un adenovirus, pero no brinda ningún indicio sobre el tipo específico que la causa.

Si es necesaria la identificación específica de la respuesta serológica de un paciente, es posible utilizar las pruebas de neutralización o de inhibición de la hemaglutinación. La primera es la más sensible. En la mayoría de los casos, la concentración de anticuerpo neutralizante de las personas afectadas muestra un incremento de cuatro veces o más contra el tipo de adenovirus que se obtiene en el paciente.

Epidemiología

Hay adenovirus en todas las partes del mundo. Están presentes durante todo el año y casi nunca originan brotes epidémicos de la enfermedad en la población; los serotipos más frecuentes en las muestras clínicas son los tipos respiratorios de números bajos (1, 2, 3, 5 y 7) y aquéllos de la gastroenteritis (40 y 41). Los adenovirus se diseminan por el contacto directo, por vía fecal-oral, mediante las pequeñas gotas respiratorias o por los fómites contaminados. La mayor parte de las enfermedades relacionadas con los adenovirus no es patognomónica desde una perspectiva clínica y muchas infecciones son subclínicas.

Las infecciones por los tipos 1, 2, 5 y 6 ocurren principalmente durante los primeros años de vida; los tipos 3 y 7 se contraen durante los años escolares y los demás tipos (como 4, 8 y 19) quizá no se presenten hasta la edad adulta.

Los adenovirus causan sólo 2 a 5% de todas las enfermedades respiratorias en la población general, pero las enfermedades respiratorias originadas por los tipos 3, 4 y 7 son frecuentes entre los reclutas y adultos jóvenes en agrupaciones o entornos institucionales.

Las infecciones oculares pueden transmitirse de diversas maneras, pero es muy importante la transmisión de mano a ojo. Los brotes epidémicos de la conjuntivitis de la piscina al parecer se contagian mediante el agua, por lo general se presentan en el verano y suelen deberse a los tipos 3 y 7. La queratoconjuntivitis epidémica es un trastorno muy contagioso y grave. La enfermedad, causada por el adenovirus tipo 8, se diseminó en 1941 desde Australia a través de las islas hawaianas hacia la costa del Pacífico y se propagó con rapidez por los astilleros (de ahí el nombre de "ojo de astillero") y a todo Estados Unidos, donde la frecuencia de anticuerpo neutralizante al adenovirus tipo 8 en la población general es muy baja (~ 1%), en tanto que en Japón es mayor de 30%. En tiempos más recientes, los adenovirus tipos 19 y 37 han causado epidemias de queratoconjuntivitis epidémica característica. Los brotes epidémicos de conjuntivitis originados en consultorios de oftalmólogos supuestamente se generaron a partir de soluciones oftálmicas o equipo de diagnóstico contaminados.

La incidencia de la infección por adenovirus en los pacientes que reciben trasplante de médula ósea se ha estimado de cinco hasta 30%. La frecuencia notificada es más alta en los pacientes pediátricos que en los adultos. Puede presentarse una infección diseminada letal. Los adenovirus tipos 34 y 35 se identifican muy a menudo en receptores de trasplante de médula ósea y riñón. La fuente más probable de infección en pacientes con trasplante es la reactivación viral endógena, aunque las infecciones primarias quizá constituyan un factor en la población infantil.

Tratamiento

No se dispone de ningún tratamiento específico para las infecciones por adenovirus.

Prevención y control

El lavado cuidadoso de las manos es la forma más fácil de evitar las infecciones. Las superficies ambientales pueden desinfectarse con hipoclorito de sodio. En ámbitos grupales, son recomendables las toallas de papel pues las toallas sucias tal vez sean una fuente de infección de los brotes epidémicos. El riesgo de brotes epidémicos de conjuntivitis transmitida por el agua se puede reducir mediante la cloración de las piscinas y el agua residual. La asepsia estricta durante la exploración ocular, aunada a la esterilización adecuada del equipo, es esencial para el control de la queratoconjuntivitis epidémica.

Los intentos por controlar las infecciones por adenovirus en los militares se han enfocado en las vacunas. En 1971, se introdujo la vacuna de adenovirus vivos que tienen los tipos 4 y 7, contenidos en cápsulas de gelatina recubierta y que se administran por vía oral. De esta manera, el virus se desviaba del aparato respiratorio (donde podía causar enfermedad) y se liberaba en el intestino, donde se replica y activa la formación de anticuerpo neutralizante. La vacuna resultó ser muy eficaz, pero en 1999 se interrumpió su distribución en Estados Unidos, aunque su uso se aprobó de nuevo en 2011 sólo para personal militar estadounidense.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los adenovirus son virus icosaédricos sin cubierta, con un genoma de DNA.
- Los adenovirus se distribuyen en todo el mundo y atacan todos los meses del año; pocas veces hay brotes extrahospitalarios de la enfermedad.
- Los adenovirus son modelos excelentes para estudios moleculares de funciones de células eucariotas.
- Algunos serotipos inducen la aparición de tumores en animales de laboratorio y sirven como modelos para estudio de oncología en seres humanos.
- Los virus del grupo C establecen infecciones latentes por mucho tiempo en amígdalas faríngeas y adenoides.
- Los virus del grupo C ocasionan infecciones en el aparato respiratorio de niños (tipos 1 a 7) y en reclutas militares (tipos 3, 4 y 7).
- Los tipos 8, 19 y 37 originan graves infecciones oculares (queratoconjuntivitis epidémica).
- Los adenovirus entéricos de tipos 40 y 41 originan gastroenteritis en niños de corta edad.
- No se cuenta con tratamientos específicos contra infecciones por adenovirus.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

En las preguntas siguientes, el singular puede cambiarse a plural (o viceversa) según lo dicte su criterio.

1. ¿Qué proteína de adenovirus regula la transcripción inicial del gen viral y modula el ciclo celular?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3
2. ¿Qué proteína de adenovirus sirve de cebador para iniciar la síntesis de DNA viral?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3
3. ¿Qué proteína de adenovirus comprende la mayor parte de los capsómeros que constituyen la cápside del virus?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3

4. Un lactante de tres meses de vida tenía diarrea líquida y fiebre de 10 días de duración. Se sospecha que el rotavirus o los adenovirus tipos 40 y 41 son los agentes causales. ¿Qué tipo de muestra sería más apropiada para detectar la infección por adenovirus tipos 40 y 41 en este paciente?
   (A) Sangre
   (B) Orina
   (C) Frotis de conjuntiva
   (D) Heces
   (E) Exudado faríngeo
   (F) Líquido cefalorraquídeo
5. ¿Cuál de las siguientes enfermedades humanas no se ha relacionado con los adenovirus?
   (A) Cáncer
   (B) Resfriados comunes
   (C) Neumopatías agudas
   (D) Queratoconjuntivitis
   (E) Gastroenteritis
   (F) Cistitis hemorrágica
6. Un niño de dos años y medio de edad que acudía a la guardería contrajo una infección respiratoria leve. Otros niños de la escuela tienen enfermedades similares. ¿Cuáles tipos de adenovirus son los que producen con más frecuencia los padecimientos?
   (A) Tipos 40 y 41
   (B) Tipos 8, 19 y 37
   (C) Tipos 1, 2, 5 y 6
   (D) Tipos 3, 4 y 7
   (E) Tipos 21, 22, 34 y 35
7. ¿Qué tipos de adenovirus son causa frecuente de infección respiratoria aguda en reclutas?
   (A) Tipos 40 y 41
   (B) Tipos 8, 19 y 37
   (C) Tipos 1, 2, 5 y 6
   (D) Tipos 3, 4 y 7
   (E) Tipos 21, 22, 34 y 35
8. ¿Cuál de los siguientes sucesos llevó a la reaparición de los brotes epidémicos de infecciones respiratorias agudas en reclutas estadounidenses a finales del decenio de 1990?
   (A) Surgimiento de una nueva cepa virulenta de adenovirus
   (B) Interrupción del programa de vacunación de adenovirus para reclutas
   (C) Cambio en las condiciones de albergue y capacitación militar de los reclutas
   (D) Suspensión del programa de farmacoterapia antiviral contra el adenovirus para los reclutas
9. Su proyecto de investigación para el verano es estudiar los virus que causan gastroenteritis. Obtiene un virus de una muestra de heces y observa que el medio de los cultivos infectados es muy ácido. Detecta que el genoma del virus es DNA bicatenario. ¿Cuál de las siguientes es la conclusión más apropiada?
   (A) Hay una gran posibilidad de que el agente causal sea un rotavirus.
   (B) Necesita determinar el serotipo viral para establecer si el virus fue importante como causa de la enfermedad.
   (C) El paciente debió tratarse con el antiviral amantadina para acortar la duración de los síntomas.
   (D) La partícula de virus contendría una enzima transcriptasa inversa.
10. ¿Cuál de los siguientes grupos de individuos tiene el menor riesgo de infección por adenovirus?
   (A) Adultos sanos
   (B) Niños pequeños
   (C) Receptores de trasplante de médula ósea
   (D) Reclutas
   (E) Pacientes con sida
11. Los adenovirus pueden causar infecciones oculares que son muy contagiosas. ¿Cuál de los siguientes es el medio menos factible de transmisión durante un brote de queratoconjuntivitis epidémica?
   (A) Piscinas
   (B) Toallas de mano
   (C) Picaduras de mosquitos
   (D) Mano a ojo
   (E) Equipo oftálmico contaminado
12. Se conocen 57 tipos de adenovirus humanos. De las afirmaciones siguientes: ¿cuál es la más exacta?
   (A) Es imposible diferenciar los tipos con bases serológicas.
   (B) Todos los tipos causan infecciones del aparato respiratorio en niños.
   (C) Casi todos los tipos muestran una réplica satisfactoria en los linfocitos T.
   (D) Dos tipos originan gastroenteritis.
13. Las afirmaciones siguientes respecto de los adenovirus son ciertas, *excepto*:
   (A) Los adenovirus tienen un genoma de DNA bicatenario con una cápside sin cubierta.
   (B) Los adenovirus ocasionan faringitis y neumonía.
   (C) Los adenovirus tienen sólo un tipo serológico.
   (D) Se ha dicho que los adenovirus intervienen en la patogenia de cánceres en animales, pero no en seres humanos.
14. De los siguientes trastornos, ¿cuál tiene la *menor posibilidad* de ser causado por adenovirus?
   (A) Conjuntivitis
   (B) Neumonía
   (C) Faringitis
   (D) Glomerulonefritis

Respuestas

1. E	5. A	9. B	13. C
2. D	6. C	10. A	14. D
3. B	7. D	11. C	
4. D	8. B	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Berk AJ: *Adenoviridae:* The viruses and their replication. En: Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Berk AJ: Recent lessons in gene expression, cell cycle control, and cell biology from adenovirus. *Oncogene* 2005;24:7673.

Kolavic-Gray SA, Binn LN, Sanchez JL, *et al.*: Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: Epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Clin Infect Dis* 2002;35:808.

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.

Russell WC: Adenoviruses: Update on structure and function. *J Gen Virol* 2009;90:1.

Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, Tellier R: Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *J Clin Microbiol* 2004;42:3963.

Tate JE, Bunning ML, Lott L, *et al.*: Outbreak of severe respiratory disease associated with emergent human adenovirus serotype 14 at a US Air Force training facility in 2007. *J Infect Dis* 2009;199:1419.

CAPÍTULO

33

Herpesvirus

La familia de los herpesvirus (virus herpéticos) contiene varios de los virus patógenos humanos más importantes. Desde el punto de vista clínico, los herpesvirus producen una amplia gama de enfermedades. Algunos afectan a gran cantidad de células hospedadoras, en tanto que otros alteran a unas cuantas. La propiedad destacada de los herpesvirus es su capacidad para establecer infecciones persistentes de por vida en sus hospedadores y experimentar reactivación periódica. Su reactivación frecuente en los pacientes inmunodeprimidos y ancianos produce complicaciones graves. Es curioso que desde el punto de vista clínico, la infección reactivada pueda ser muy diferente a la enfermedad causada por la infección primaria. Los herpesvirus poseen gran número de genes, algunos de los cuales han resultado ser susceptibles a la quimioterapia antiviral.

Los herpesvirus que infectan por lo general a los seres humanos han sido innumerables, desde el herpesvirus humano 1 (HHV-1) hasta el HHV-8, aunque se les conoce por sus nombres individuales. En ese orden, se conocen los virus de herpes simple tipos 1 y 2 (HSV-1, HSV-2); el de varicela-zóster (VZV), el citomegálico (CMV), el de Epstein-Barr (EBV) y los herpesvirus 8 (HHV-8, también conocido como herpesvirus del sarcoma de Kaposi [KSHV]). El virus del herpes B de los monos también puede infectar al ser humano. Existen casi 100 virus del grupo del herpes que infectan a muchas especies de animales diferentes.

PROPIEDADES DE LOS HERPESVIRUS

En el cuadro 33-1, se resumen propiedades importantes de los herpesvirus.

Estructura y composición

Los herpesvirus son virus de gran tamaño. Diferentes miembros del grupo comparten detalles estructurales y son distinguibles mediante microscopia electrónica. Todos los herpesvirus tienen un centro de DNA bicatenario, en forma de un toroide, rodeado por una cubierta de proteína que muestra una simetría icosaédrica y que posee 162 capsómeros. La nucleocápside está rodeada por una envoltura que se deriva de la membrana nuclear de la célula infectada y contiene espigas de nucleoproteína viral de unos 8 nm de longitud. La estructura amorfa, a veces asimétrica, que se encuentra entre la cápside y la cubierta, se designa como tegumento. La forma con envoltura mide 150 a 200 nm; el virión "desnudo", 125 nm.

El genoma de DNA bicatenario (125 a 240 kbp) es lineal. Una característica notable del DNA de los herpesvirus es la disposición de su secuencia (figura 33-1). Los genomas del herpesvirus poseen secuencias terminales e internas repetidas. Algunos miembros, como los HSV, experimentan reordenamientos del genoma y originan diferentes "isómeros" genómicos. La composición fundamental de los DNA del herpesvirus varía desde 31 a 75% (G + C). Hay una escasa homología de DNA entre los diferentes herpesvirus, excepto para HSV-1 y HSV-2, que muestran una homología secuencial de 50% y los herpesvirus humanos 6 y 7 (HHV-6 y HHV-7), que muestran una homología de secuencia limitada (30 a 50%). El tratamiento con endonucleasas de restricción produce patrones de desdoblamiento característicamente diferentes para los herpesvirus e incluso para las diferentes cepas de cada tipo. Esta "huella molecular" de las cepas permite el rastreo epidemiológico de una determinada cepa.

El genoma del herpesvirus es grande y codifica por lo menos 100 proteínas diferentes. De éstas, más de 35 polipéptidos intervienen en la estructura de la partícula viral; al menos 10 son parte de la envoltura viral. Los herpesvirus codifican un ordenamiento de enzimas específicas del virus que intervienen en el metabolismo del ácido nucleico, la síntesis de DNA, la expresión génica y la regulación de proteínas (DNA polimerasa, helicasa-primasa, timidina cinasa, factores de transcripción, proteína cinasas). Muchos genes de los herpesvirus al parecer son homólogos virales de los genes celulares.

Clasificación

La clasificación de múltiples miembros de la familia del herpesvirus es compleja. Una división útil en subfamilias se basa en las propiedades biológicas de los compuestos (cuadro 33-2). Los herpesvirus α son virus citolíticos de crecimiento rápido que tienden a establecer infecciones latentes en las neuronas; son miembros el HSV (género *Simplexvirus*) y el virus de varicela-zóster (género *Varicellovirus*). Los herpesvirus β son de crecimiento lento y pueden ser citomegálicos (crecimientos masivos de las células infectadas) y se vuelven latentes en las glándulas secretoras en los riñones; el CMV se clasifica bajo el

apter 33_Carroll_4R.indd 457 15/04/16

CUADRO 33-1 Propiedades importantes de los herpesvirus

Virión: esférico, 150 a 200 nm de diámetro (icosaédrico)	
Genoma: DNA bicatenario, lineal, 125 a 240 kbp, secuencias repetidas	
Proteínas: más de 35 proteínas en el virión	
Envoltura: contiene glucoproteínas virales, receptores de Fc	
Replicación: núcleo, gemación a partir de la membrana nuclear	
Características sobresalientes: Codifica muchas enzimas Establece infecciones latentes Persiste de forma indefinida en hospedadores infectados Se reactiva con frecuencia en hospedadores inmunodeprimidos Algunos provocan cáncer	

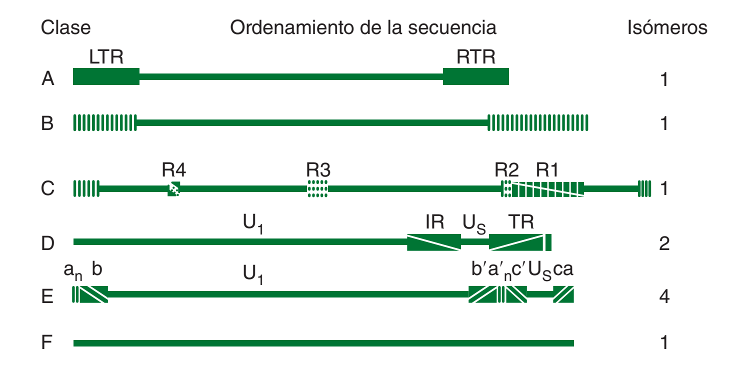


FIGURA 33-1 Esquema de los ordenamientos sucesivos del DNA de los herpesvirus. Las clases de genoma A, B, C, D, E y F están ejemplificadas por el virus del bagre de río, del herpesvirus saimiri, el EBV, el virus varicela-zóster, el HSV y el herpesvirus tupaia, respectivamente. Las *líneas horizontales* representan regiones únicas. Los dominios reiterados se muestran como *rectángulos*: repeticiones terminales izquierda y derecha (LTR y RTR) para la clase A; repeticiones R1 a R4 para las repeticiones internas clase C y las repeticiones internas y terminales (IR y TR) clase D. En la clase B, las secuencias terminales se reiteran varias veces en los dos términos. Los términos clase E constan de dos elementos: las secuencias terminales (ab y ca) que se insertan en una orientación invertida separando las secuencias únicas en dominios largos (U_l) y cortos (U_s). Los genomas clase F no tienen repeticiones terminales. Los componentes de los genomas en las clases B y E se invierten. En la clase D (virus varicela-zóster, el componente corto se invierte en relación con el largo y el DNA forma dos poblaciones (isómeros) con orientación diferente del componente corto. En la clase E (virus del herpes simple), tanto el componente corto como el largo pueden invertirse y el DNA viral consta de cuatro isómeros. (Con autorización de Roizman B: Herpesviridae. A brief introduction. En Fields BN, Knipe DM (editors-in-chief). *Virology,* 2a. ed. Raven Press, 1990, pp. 1787-1793.)

género *Citomegalovirus*. También se incluyen aquí, en el género *Roseolovirus*, los HHV-6 y HHV-7; según criterios biológicos, se parecen más a los herpesvirus γ porque infectan a los linfocitos (linfotrópicos T), pero los análisis moleculares de sus genomas revelan que se relacionan de modo más esencial con los herpesvirus β. Los herpesvirus γ, ejemplificados por EBV (género *Linfocriptovirus*), infectan y se vuelven latentes en las células linfoides. KSHV, designado como herpesvirus humano 8, se clasifica bajo el género *Rhadinovirus*.

Muchos herpesvirus infectan a los animales y de ellos el más notable es el virus B (herpesvirus simiae o herpesvirus cercopithecine 1) del género *Simplexvirus;* los herpesvirus saimiri y ateles de los monos, los dos del género *Rhadinovirus;* los herpesvirus de la marmota (género *Simplexvirus*) y el virus seudorrábico de los cerdos y el virus de la rinotraqueítis bovina infecciosa del ganado, los dos del género *Varicellovirus*.

Existe una escasa correlación antigénica de los miembros del grupo del herpesvirus. Sólo HSV-1 y HSV-2 comparten un número importante de antígenos comunes. El HHV-6 y el HHV-7 muestran pocos epítopos de reacción cruzada.

Replicación del herpesvirus

En la figura 33-2, se resume el ciclo de replicación de HSV. El virus entra en la célula por fusión con la membrana celular después de unirse a los receptores celulares específicos a través de la glucoproteína de la envoltura. Varios herpesvirus se unen a los glucosaminoglucanos de la superficie celular, principalmente sulfato de heparán. La adhesión del virus también implica la unión a uno de varios correceptores (p. ej., miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas). Después de la fusión, la cápside es transportada a través del citoplasma hasta el poro nuclear; ocurre la pérdida de envoltura y el DNA se vincula con el núcleo. El DNA viral forma un círculo inmediatamente después de la liberación desde la cápside. La expresión del genoma viral está estrechamente regulada y ordenada de manera sucesiva en forma de cascada. VP16, una proteína de tegumento, constituye complejos con varias proteínas celulares y activa la expresión inicial del gen viral. Se expresan genes inmediatos-iniciales que producen proteínas "α". Estas proteínas permiten la expresión de la serie inicial de genes, que se traducen en proteínas "β". La replicación del DNA viral comienza, y se generan transcritos tardíos que dan origen a las proteínas "γ". Se sintetizan más de 50 proteínas diferentes en las células infectadas por herpesvirus. Muchas proteínas α y β son enzimas o proteínas fijadoras de DNA; la mayor parte de las proteínas γ son componentes estructurales.

El DNA viral es transcrito durante todo el ciclo de replicación por la RNA polimerasa celular II, pero con la participación de factores virales. El DNA viral se sintetiza mediante un mecanismo de círculo rodante. Los herpesvirus difieren de otros virus de DNA nuclear en que codifican un gran número de enzimas que intervienen en la síntesis de DNA. Estas enzimas son puntos sensibles para la acción de antivirales. El DNA viral recién sintetizado es empacado en nucleocápsides vacías preformadas en el núcleo celular.

La maduración ocurre por la gemación de las nucleocápsides a través de la membrana nuclear interna alterada. Las partículas de virus envueltas son transportadas luego por el movimiento vesicular hacia la superficie de la célula.

La duración del ciclo de replicación varía desde unas 18 h para el HSV hasta más de 70 h para el CMV. Las células productivas infectadas con los herpesvirus siempre son destruidas. La síntesis macromolecular del hospedador se inactiva en las primeras etapas de la infección; la síntesis de DNA celular

CUADRO 33-2 Clasificación de los herpesvirus humanos

	Propiedades biológicas		Ejemplos		
Subfamilia ("-herpesvirinae")	**Ciclo de crecimiento y citopatología**	**Infecciones latentes**	**Género ("-*virus*")**	**Nombre original ("herpesvirus humano")**	**Nombre común**
α	Corto, citolítico	Neuronas	*Simplex*	1	Virus del herpes simple tipo 1
				2	Virus del herpes simple tipo 2
			Varicela	3	Virus de varicela zóster
β	Largo, citomegálico	Glándulas, riñones	*Citomegalo*	5	Citomegalovirus
	Largo, linfoproliferativo	Tejido linfoide	*Roseolo*	6	Herpesvirus humano 6
				7	Herpesvirus humano 7
γ	Variable, linfoproliferativo	Tejido linfoide	*Lymphocrypto*	4	Virus de Epstein-Barr
			Rhadino	8	Herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi

normal y de proteína prácticamente se detiene al comenzar la replicación viral. Los efectos citopáticos provocados por los herpesvirus humanos son muy distintivos (figura 33-3).

El número de marcos potenciales de codificación de proteínas de lectura abierta en los genomas de herpesvirus fluctúa de casi 70 hasta más de 200. En el caso de HSV, casi 50% de los genes no es necesario para el crecimiento en las células cultivadas. Los demás genes quizá son necesarios para la supervivencia del virus *in vivo* en hospedadores naturales.

En fecha reciente, se ha observado que los herpesvirus expresan múltiples microRNA, pequeños RNA monocatenarios (cerca de 22 nucleótidos) que funcionan después de la transcripción para regular la expresión génica. Dichos microRNA virales son importantes para regular las funciones celulares y entrar o salir (o ambas funciones) de la fase latente del ciclo vital de los virus, además de aportar blancos atractivos en que actuarán nuevos antivirales.

Generalidades de las enfermedades por herpesvirus

Diversas entidades patológicas se relacionan con la infección generada por los herpesvirus. La infección primaria y la enfermedad reactivada por un determinado virus pueden implicar diferentes tipos de células y presentar distintos cuadros clínicos.

HSV-1 y HSV-2 infectan a las células epiteliales y establecen infecciones latentes en las neuronas. El tipo 1 por lo general se relaciona con lesiones bucofaríngeas y produce episodios recidivantes de "herpes febril". El herpesvirus tipo 2 infecta principalmente la mucosa genital y es la causa principal del herpes genital. Los dos virus también originan enfermedad neurológica. El HSV-1 es la principal causa de encefalitis esporádica en Estados Unidos. Tanto el tipo 1 como el tipo 2 pueden causar infecciones neonatales que a menudo son graves.

El virus de varicela-zóster produce varicela en la infección primaria y establece una infección latente en las neuronas. Tras la reactivación, el virus genera herpes zóster. Los adultos que se han infectado por primera vez con el virus de varicela-zóster pueden presentar una neumonía viral grave.

El CMV se replica en las células epiteliales del aparato respiratorio, las glándulas salivales y los riñones y persiste en los linfocitos. Produce mononucleosis infecciosa (heterófila negativa). En los recién nacidos, es posible que se presente citomegalovirus. El CMV es una causa importante de defectos congénitos y retraso mental.

El EBV se replica en células epiteliales de la bucofaringe y las glándulas parótidas y establece infecciones latentes en los linfocitos. Es causa de mononucleosis infecciosa y de trastornos linfoproliferativos humanos, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos.

Los HHV-6 infectan a los linfocitos T. Suelen adquirirse en las primeras etapas de la lactancia y originan exantema súbito (roséola infantil). El HHV-7, también un virus T linfotrópico, no se ha vinculado aún con ninguna enfermedad específica. El HHV-8 al parecer se relaciona con el desarrollo del sarcoma de Kaposi, un tumor vascular que es frecuente en los pacientes con sida.

El herpesvirus B de los monos macacos puede infectar al ser humano. Tales infecciones son infrecuentes, pero las que se presentan casi siempre dan por resultado enfermedad neurológica grave y a menudo son letales.

Los herpesvirus humanos a menudo se reactivan en los pacientes inmunodeprimidos y los ancianos (p. ej., receptores de trasplante, pacientes con cáncer) y pueden causar enfermedad grave, como neumonía o linfomas.

Los herpesvirus se han relacionado con enfermedades malignas en seres humanos y en animales inferiores: el EBV con linfoma de Burkitt en niños africanos, con carcinoma nasofaríngeo y con otros trastornos linfoproliferativos; el KSHV, con el sarcoma de Kaposi; el virus de la enfermedad de Marek, con un linfoma de los pollos y, diversos herpesvirus de los primates, con los reticulosarcomas y con linfomas en simios.

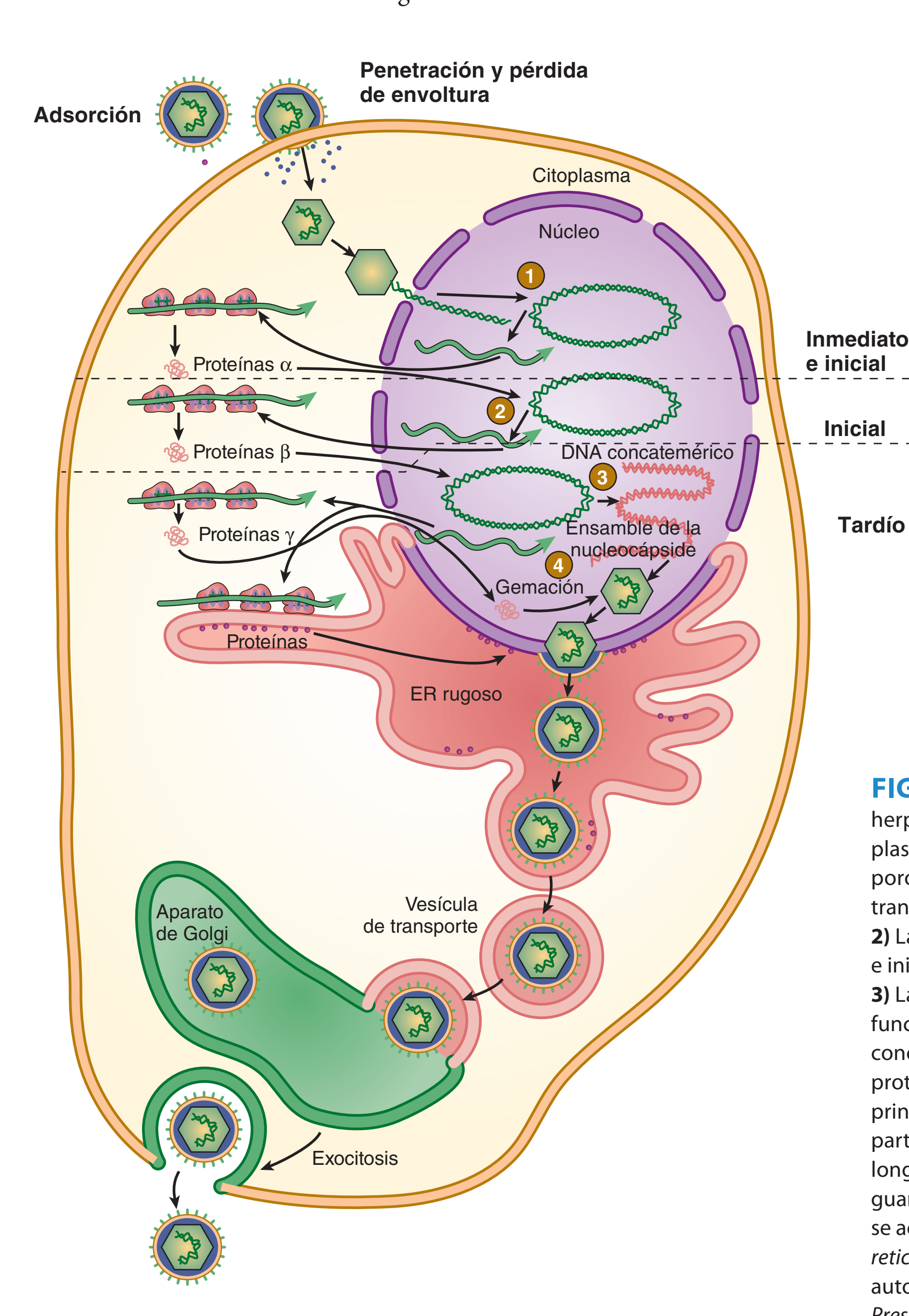


FIGURA 33-2 Ciclo de replicación del virus del herpes simple. **1)** El virus se fusiona con la membrana plasmática y el DNA viral es liberado de la cápside en el poro nuclear, seguido por la circulación de genoma y la transcripción de los genes inmediatos e iniciales. **2)** Las proteínas α, productos de los genes inmediatos e iniciales, estimulan la transcripción de genes iniciales. **3)** Las proteínas β, productos de los genes iniciales, funcionan en la replicación de DNA, generando DNA concatemérico. Los genes tardíos son transcritos. **4)** Las proteínas γ, productos de los genes tardíos y que constan principalmente de proteínas estructurales virales, participan en el ensamble del virión. El DNA viral de longitud de unidad se desdobla en los concatémeros y se guarda en las cápsides. Las partículas virales envueltas se acumulan en el retículo endoplásmico (ER, *endoplasmic reticulum*) y son transportadas desde las células. (Con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley* y *Klein's Microbiology*, 7a. ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

INFECCIONES POR HERPESVIRUS EN SERES HUMANOS

VIRUS DEL HERPES SIMPLE

Los HSV están muy diseminados en la población humana. Muestran una amplia gama de hospedadores y pueden replicarse en muchos tipos de células e infectar a muchos animales diferentes. Crecen con rapidez y son altamente citolíticos. Los HSV intervienen en una amplia gama de enfermedades, que van desde la gingivoestomatitis hasta la queratoconjuntivitis, la encefalitis, la enfermedad genital y las infecciones de recién nacidos. Los HSV confirman infecciones latentes en células nerviosas; son frecuentes las recidivas.

Propiedades de los virus

Existen dos HSV distintos: el tipo 1 y el tipo 2 (HSV-1 y HSV-2) (cuadro 33-3). Sus genomas son similares en organización y muestran una homología de secuencia sustancial. Sin embargo, se pueden distinguir mediante el análisis de secuencia o por el análisis de enzima de restricción del DNA viral. Los dos virus presentan reacciones cruzadas serológicas, pero hay algunas proteínas singulares para cada tipo. Su mecanismo de transmisión es diferente. De manera tradicional, HSV-1 se propaga por contacto que incluye saliva infectada; el HSV-2 es transmitido por contacto sexual o a través de infección del recién nacido a partir de los genitales de la madre. Sin embargo, estos patrones son cada vez menos distintos por lo que ambos virus pueden causar cualquiera de las dos presentaciones.

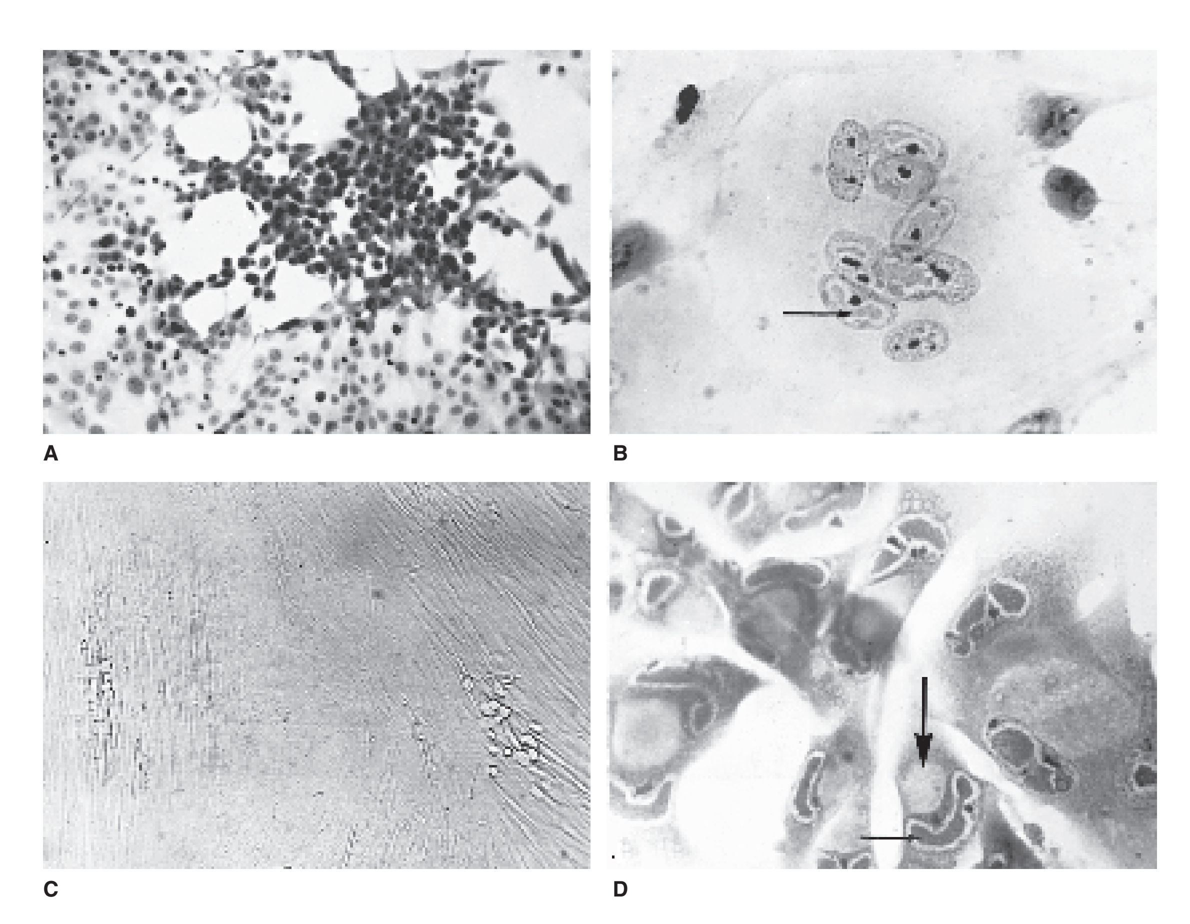


FIGURA 33-3 Efectos citopáticos inducidos por herpesvirus. **A:** Virus de herpes simple de células HEp-2 (tinción de hematoxilina y eosina, 57x) con células redondeadas turgentes en un foco incipiente). **B:** Virus varicela-zóster en células de riñón humano (tinción de H y E, 228x), con una célula gigante multinucleada que contiene inclusiones intranucleares acidófilas (*flecha*). **C:** Citomegalovirus en fibroblastos humanos (no teñido, 35x) con dos focos de efectos citopáticos de desarrollo lento. **D:** Citomegalovirus en fibroblastos humanos (tinción de H y E, 228x), que muestra células gigantes con inclusiones acidófilas en los núcleos (*flecha pequeña*) y citoplasma (*flecha grande*); la última es grande y redonda de manera característica. (Cortesía de I. Jack; con autorización de White DO, Fenner FJ: *Medical Virology*, 3a. ed. Academic Press, 1986.)

El ciclo de crecimiento del HSV se produce con rapidez y se necesitan 8 a 16 h para que concluya. El genoma del HSV es grande (alrededor de 150 kbp) y puede codificar un mínimo de 70 polipéptidos; se desconocen las funciones de muchas de estas proteínas en la replicación o en la latencia. Por lo menos ocho glucoproteínas virales figuran entre los productos de genes tardíos virales. Una (gD) es el inductor más potente de los anticuerpos neutralizantes. La glucoproteína C es una proteína fijadora del componente (C3b) del sistema de complemento, en tanto que gE es un receptor para la porción Fc de la IgG. La glucoproteína G es específica y permite la distinción antigénica entre HSV-1 (gG-1) y HSV-2 (gG-2).

Patogenia

A. Anatomía patológica

Puesto que HSV genera infecciones citolíticas, los cambios histopatológicos se deben a la necrosis de las células infectadas junto con la respuesta inflamatoria. Las lesiones provocadas en la piel y las mucosas por HSV-1 y HSV-2 son las mismas y se parecen a las del virus de varicela-zóster. Los cambios provocados por el HSV son similares en las infecciones primarias y en las recurrentes, pero varían en el grado, lo cual refleja la magnitud de la citopatología viral.

Los cambios histopatológicos característicos consisten en abombamiento de las células infectadas, producción de cuerpos de inclusión intranuclear de Cowdry tipo A, marginación de la cromatina y formación de células gigantes multinucleadas. La fusión celular proporciona un método eficaz para la diseminación intercelular del HSV, aun cuando haya anticuerpos neutralizantes.

B. Infección primaria

El HSV se transmite por el contacto de una persona susceptible con un virus excretado individual. El virus debe encontrar las superficies de la mucosa o la piel lesionada para poder iniciar una infección (la piel intacta es resistente). La replicación viral ocurre primero en el lugar de la infección. El virus invade luego las terminaciones nerviosas locales y es transportado por el flujo axonal retrógrado hacia los ganglios de la raíz dorsal donde, después de la replicación adicional, se establece la latencia. Las infecciones bucofaríngeas por HSV-1 producen infecciones latentes en el ganglio del trigémino, mientras que las infecciones genitales por HSV-2 dan lugar a la infección latente de los ganglios sacros.

CUADRO 33-3 Comparación de los virus del herpes simple tipos 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2)

Características	HSV-1	HSV-2
Bioquímicas		
Composición de las bases del DNA viral (G + C)(%)	67	69
Densidad de flotación de DNA (g/cm³)	1.726	1.728
Densidad de flotación de viriones (g/cm³)	1.271	1.267
Homología entre los DNA virales(%)	Alrededor de 50	Cerca de 50
Biológicas		
Vectores o reservorios animales	Ninguno	Ninguno
Lugar de latencia		
	Ganglios del trigémino	Ganglios sacros
Epidemiológicas		
Edad de infección primaria	Niños pequeños	Adultos jóvenes
Transmisión	Contacto (a menudo saliva)	Sexual
Clínica		
Infección primaria:		
Gingivoestomatitis	+	–
Faringoamigdalitis	+	–
Queratoconjuntivitis	+	–
Infecciones neonatales	±	+
Infección recurrente:		
Herpes labial, fuegos	+	–
Queratitis	+	–
Infección primaria o recurrente:		
Herpes cutáneo		
Piel por arriba de la cintura	+	±
Piel por debajo de la cintura	±	+
Manos o brazos	+	+
Panadizo herpético	+	+
Eccema herpético	+	–
Herpes genital	±	+
Encefalitis por herpes	+	–
Meningitis por herpes	±	+

Con autorización de Oxman MN: Herpes stomatitis. En Braude AI, David CE, Fierer J (editors). *Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2a. ed. Saunders, 1986:752.

Las infecciones primarias por HSV suelen ser leves; de hecho, la mayor parte es asintomática. Sólo pocas veces sobreviene la enfermedad sistémica. De manera ocasional, el HSV penetra en el sistema nervioso central (SNC) y ocasiona meningitis o encefalitis. La afectación difusa de órganos surge cuando un hospedador inmunodeprimido no puede limitar la replicación viral y se presenta viremia.

C. Infección latente

El virus reside en ganglios con infección latente en un estado de ausencia de replicación; sólo se expresan muy pocos genes virales. La persistencia viral en los ganglios con infección latente dura toda la vida del hospedador. No se puede aislar al virus entre las recurrencias en el lugar habitual de las lesiones recidivantes o cerca del mismo. Los estímulos desencadenantes pueden reactivar al virus latente, lo cual comprende lesión axonal, fiebre, tensión física o emocional y exposición a la luz ultravioleta. El virus sigue los axones de regreso hacia la periferia y procede la replicación en la piel o en la mucosa. Las reactivaciones espontáneas se presentan en el hospedador pese a la inmunidad humoral y celular específica contra el HSV. Sin embargo, esta inmunidad limita la replicación viral local, de manera que las infecciones recurrentes son menos difusas y menos graves. Muchas recurrencias son asintomáticas, sólo se manifiestan por la eliminación de los virus en las secreciones. Cuando aquellas originan síntomas, los episodios de infección recurrente por HSV-1 suelen manifestarse como herpes labial ("herpes febril") cerca del labio. Más de 80% de la población

humana alberga HSV-1 en una forma latente, pero sólo una pequeña porción experimenta recurrencias. No se sabe por qué algunas personas presentan reactivaciones y otras no.

Manifestaciones clínicas

El HSV-1 y el HSV-2 pueden causar muchas enfermedades clínicas y las infecciones pueden ser primarias o recurrentes (cuadro 33-3). Las infecciones primarias surgen en personas que no tienen anticuerpos y en la mayoría de los individuos no generan manifestaciones clínicas, pero dan por resultado la producción de anticuerpos y el establecimiento de infecciones latentes en los ganglios sensoriales. Las lesiones recurrentes son comunes.

A. Lesiones bucofaríngeas

Las infecciones primarias por HSV-1 suelen ser asintomáticas. Las infecciones sintomáticas ocurren muy a menudo en niños pequeños (uno a cinco años de edad) y afectan la mucosa bucal y gingivobucal (figura 33-4A). El periodo de incubación es breve (unos tres a cinco días con una variación de dos a 12 días) y el padecimiento clínico persiste por dos a tres semanas. Los síntomas consisten en fiebre, disfagia, lesiones vesiculares y ulcerosas, gingivoestomatitis y ataque al estado general. La gingivitis (encías hinchadas y dolorosas) constituye la lesión más notable y frecuente. Las infecciones primarias en los adultos suelen ser causa de faringitis y amigdalitis. Tal vez aparezca una linfadenopatía circunscrita.

La enfermedad recurrente se caracteriza por un conglomerado de vesículas que por lo general se encuentran circunscritas al borde del labio (figura 33-4B). Se presenta un dolor intenso desde el principio, pero desaparece en el curso de cuatro a cinco días. Las lesiones avanzan a través de las etapas de vesículas y costras, y suelen cicatrizar sin fibrosis al cabo de ocho a 10 días. Las lesiones pueden recidivar, varias veces y a intervalos diversos, en la misma ubicación. La frecuencia de las recurrencias varía mucho entre los individuos. Diversas recidivas con diseminación viralbucal son asintomáticas y de duración breve (24 h).



A



B

FIGURA 33-4 **A:** Gingivoestomatitis primaria por herpes simple (cortesía de JD Millar. *Fuente*: Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library, ID# 2902, 2008). **B:** Herpes simple labial recurrente. (Con autorización de Berger TG, Dept Dermatology, UCSF. Reproducida de McPhee SJ, Papadakis MA [editors]: *Current Medical Diagnosis & Treatment*, 48a. ed. McGraw-Hill, 2009.)

B. Queratoconjuntivitis

Las infecciones por HSV pueden presentarse en el ojo y producir una queratoconjuntivitis grave. Las lesiones recurrentes del ojo son comunes y se presentan como queratitis dendrítica o úlceras corneales o como vesículas en los párpados. Con la queratitis recurrente puede haber una afectación progresiva del estroma corneal, con opacidad permanente y ceguera. Las infecciones por HSV ocupan el segundo lugar después del traumatismo como una causa de ceguera corneal en Estados Unidos.

C. Herpes genital

La afectación genital suele deberse a HSV-2, aunque HSV-1 también puede ser causa de episodios clínicos de herpes genital. Las infecciones primarias por herpes genital en ocasiones son graves y la enfermedad dura unas tres semanas. El herpes genital se caracteriza por lesiones vesiculoulcerosas del pene en el varón o del cuello uterino, la vulva, la vagina y el perineo de la mujer. Las lesiones son muy dolorosas y suelen acompañarse de fiebre, ataque al estado general, disuria y linfadenopatía inguinal. Las complicaciones son lesiones extragenitales (en promedio 20% de los casos) y meningitis aséptica (cerca de 10% de los casos). La excreción viral persiste durante unas tres semanas.

Dado que hay una reactividad cruzada antigénica entre HSV-1 y HSV-2, la inmunidad preexistente proporciona cierta protección contra la infección heterotípica. Una infección inicial por HSV-2 en una persona que ya es inmune a HSV-1 tiende a ser menos grave.

Las recidivas de infecciones herpéticas genitales son frecuentes y tienden a ser leves. Se produce un número limitado de vesículas y cicatrizan en unos 10 días. El virus es eliminado durante sólo algunos días. Algunas recidivas son asintomáticas

con diseminación viral anogenital que persiste por menos de 24 h. Independientemente de la presencia o la ausencia de síntomas durante la recidiva, una persona que disemina el virus puede transmitir la infección a sus parejas sexuales.

D. Infecciones cutáneas

La piel intacta es resistente a HSV, de manera que las infecciones cutáneas por HSV son infrecuentes en personas sanas. Las lesiones circunscritas causadas por HSV-1 o HSV-2 pueden presentarse en abrasiones que se contaminan con el virus (herpes traumático). Estas lesiones se observan en los dedos de los dentistas y en el personal hospitalario (panadizo herpético) y en los cuerpos de luchadores (herpes del gladiador).

Las infecciones cutáneas suelen ser graves y letales cuando se presentan en personas con trastornos de la piel, como eccemas o quemaduras, que permiten la replicación viral local extensa y la diseminación. El eccema herpético es una infección primaria, por lo general por HSV-1, en una persona con un eccema crónico. En pocos casos, la enfermedad quizá sea letal.

E. Meningitis/encefalitis

El virus del herpes es capaz de producir una forma grave de encefalitis. Las infecciones por HSV-1 se consideran la fuente más habitual de encefalitis esporádica letal en Estados Unidos. La enfermedad conlleva una elevada tasa de mortalidad y quienes sobreviven a menudo presentan anomalías neurológicas residuales. Casi 50% de los pacientes con encefalitis por HSV parecen tener infecciones primarias y los restantes tal vez padezcan infección recidivante.

F. Herpes neonatal

La infección neonatal por HSV puede adquirirse dentro del útero, durante el parto o después de éste. La madre es la fuente de infección más común en todos los casos. Se calcula que el herpes neonatal se presenta en casi 1 de cada 5 000 partos por año. Al parecer, el recién nacido no tiene la capacidad de limitar la replicación y la diseminación de HSV y es propenso a presentar una enfermedad grave.

La vía de infección más frecuente (alrededor de 75% de los casos) es la transmisión del HSV al recién nacido durante el parto por el contacto con las lesiones herpéticas en el conducto del parto. Para evitar la infección, se ha utilizado la cesárea en las embarazadas con lesiones por herpes genital. Sin embargo, se presentan muchos menos casos de infección de HSV neonatal que de herpes genital recurrente, aun cuando el virus esté presente al término.

El herpes neonatal puede adquirirse después del nacimiento por la exposición a HSV-1 o HSV-2. Las fuentes de infección comprenden los familiares y el personal hospitalario que propagan el virus. Casi 75% de las infecciones neonatales por herpes se debe a HSV-2. No parece haber ninguna diferencia entre las características y la gravedad del herpes neonatal en lactantes prematuros o de término, en las infecciones causadas por HSV-1 o HSV-2, o en la infección en la cual se adquiere el virus durante el parto o el puerperio.

Las infecciones herpéticas neonatales casi siempre son sintomáticas. La tasa de mortalidad global de la infección no tratada es 50%. Los lactantes con herpes neonatal muestran tres categorías de enfermedad: 1) lesiones circunscritas a la piel, los ojos y la boca; 2) encefalitis con o sin afectación cutánea circunscrita y 3) enfermedad diseminada de múltiples órganos, incluido el SNC. El peor pronóstico (tasa de mortalidad cercana a 80%) se aplica a los lactantes con infección diseminada, muchos de los cuales presentan encefalitis. La causa de muerte de los lactantes con enfermedad diseminada suele ser la neumonitis viral o la coagulopatía intravascular. Muchos sobrevivientes de infecciones graves quedan con alteración neurológica permanente.

G. Infecciones en hospedadores inmunodeprimidos

Los pacientes inmunodeprimidos tienen un mayor riesgo de manifestar infecciones graves por HSV. Éstos comprenden a los sujetos inmunodeprimidos por enfermedades o tratamiento (sobre todo aquellos con inmunidad celular deficiente) y los individuos desnutridos. Los receptores de trasplante renal, cardiaco y de médula ósea tienen mayor riesgo de infecciones herpéticas graves. Los pacientes con neoplasias malignas hematológicas y aquellos con sida padecen infecciones más frecuentes y más graves por HSV. Las lesiones herpéticas pueden diseminarse y afectar el aparato respiratorio, el esófago y la mucosa intestinal. Los niños desnutridos son propensos a las infecciones diseminadas y letales por HSV. En la mayoría de los casos, la enfermedad refleja la reactivación de la infección latente por HSV.

Inmunidad

Muchos recién nacidos adquieren anticuerpos maternos transportados de forma pasiva. Estos anticuerpos se pierden durante los primeros seis meses de vida y el periodo de máxima susceptibilidad a la infección herpética primaria ocurre entre los seis meses y los dos años de edad. Los anticuerpos de la madre adquiridos a través de la placenta no protegen por completo contra la infección de recién nacidos, pero parecen mitigar la infección si no la previenen. Los anticuerpos contra HSV-1 comienzan a presentarse en la población en las primeras etapas de la niñez; hacia la adolescencia, están presentes en la mayoría de las personas. Los anticuerpos contra HSV-2 aumentan durante la adolescencia y la actividad sexual.

En las infecciones primarias, los anticuerpos IgM se presentan de manera transitoria y se acompañan de anticuerpos IgG e IgA que persisten por periodos prolongados. Mientras más grave sea la infección primaria o más frecuentes sean las recurrencias, mayor será el grado de respuesta inmunitaria. Sin embargo, el patrón de respuesta de anticuerpos no se ha correlacionado con la frecuencia de recurrencia de la enfermedad. La inmunidad mediada por células y los factores inespecíficos del hospedador (linfocitos citolíticos naturales, interferón) son importantes para controlar las infecciones por HSV tanto primarias como recurrentes.

Tras el restablecimiento de una infección primaria (no manifiesta, leve o grave), el virus es transportado en un estado de latencia en presencia de anticuerpos. Estos anticuerpos no evitan la reinfección o la reactivación del virus latente, pero pueden modificar la enfermedad subsiguiente.

Diagnóstico de laboratorio

A. Reacción en cadena de la polimerasa

Las técnicas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) se usan para detectar virus en material de vesículas obtenidas por aplicador, sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) y tejidos; son sensibles y específicas. La amplificación del DNA viral por medio de PCR, del LCR, es el recurso más sensible para detectar virus, y se recomienda para el diagnóstico de meningitis/encefalitis herpética.

B. Aislamiento e identificación de virus

El cultivo de virus es una técnica de uso común, particularmente para el diagnóstico de enfermedades mucocutáneas. Los virus se pueden aislar de lesiones herpéticas y se les detecta asimismo en muestras obtenidas de vías respiratorias, tejidos y líquidos corporales, durante la infección primaria y también en periodos asintomáticos. Por lo tanto, el aislamiento de HSV no es en sí una prueba suficiente que indique que el virus es el causante de la enfermedad que se está investigando.

Se utiliza la inoculación de cultivos de tejidos para el aislamiento viral. El HSV es fácil de cultivar y los efectos citopáticos por lo general ocurren en sólo dos a tres días. Luego, se identifica el agente mediante la prueba de neutralización o tinción inmunofluorescente con antisuero específico. Se utiliza el cultivo después de centrifugación para el diagnóstico oportuno de virus citomegálico y así detectar la replicación de HSV dentro de las células después de 24 h de incubación, con uso de anticuerpos fluorescentes. Se puede realizar la tipificación de cepas de HSV con la utilización de anticuerpo monoclonal, análisis secuencial, o mediante el análisis de endonucleasa de restricción de DNA viral, pero sólo es útil para estudios epidemiológicos.

C. Citopatología

Un método citológico rápido consiste en teñir las muestras obtenidas por raspado de la base de la vesícula (p. ej., con tinción de Giemsa); la presencia de células gigantes multinucleadas indica que está presente un herpesvirus (HSV-1, el HSV-2 o varicela-zóster), lo cual distingue a las lesiones de aquellas causadas por coxsackievirus y enfermedades no virales. Una técnica más sensible es la detección del antígeno por fluorescencia directa en infecciones que contienen células infectadas por virus.

D. Serología

Se producen anticuerpos en un lapso de cuatro a siete días después de la infección y alcanzan un máximo en dos a cuatro semanas. Persisten con fluctuaciones leves durante toda la vida del hospedador. Entre los métodos de detección con los que se cuenta están neutralización, inmunofluorescencia y enzimoinmunoanálisis de adsorción.

La utilidad diagnóstica de los análisis serológicos está limitada por los múltiples antígenos compartidos por HSV-1 y HSV-2. También puede haber algunas respuestas anamnésicas heterotípicas al virus de varicela-zóster en las personas infectadas con HSV y viceversa. El empleo de anticuerpos específicos para HSV, permite llevar a cabo pruebas serológicas más valiosas.

Epidemiología

El HSV tiene una distribución mundial. No hay reservorios animales o vectores relacionados con los virus humanos. La transmisión es por contacto con las secreciones infectadas. Son diferentes las características epidemiológicas de HSV-1 y HSV-2.

De manera típica, la infección primaria de HSV-1 surge en las primeras etapas de la vida y suele ser asintomática; a veces, produce afectación bucofaríngea (gingivoestomatitis en niños pequeños, faringitis en adultos jóvenes). Se producen anticuerpos, pero el virus no se elimina del organismo; se establece un estado de portador que persiste de por vida y que se interrumpe por episodios recurrentes y transitorios de herpes.

La incidencia más alta de la infección por HSV-1 ocurre en niños de seis meses a tres años de edad. Hacia la edad adulta, 70 a 90% de las personas tienen anticuerpos para el tipo 1. Hay una gran tasa de variación geográfica en la seroprevalencia. Los individuos de clase media de países desarrollados adquieren los anticuerpos a una edad más avanzada que aquellos de poblaciones socioeconómicas más bajas. Al parecer, esto refleja las condiciones de mayor hacinamiento y la higiene más deficiente en los últimos. El virus se disemina por el contacto directo con la saliva infectada o a través de utensilios contaminados con la saliva de una persona que disemina el virus. La fuente de infección en los niños suele ser un adulto con una lesión herpética sintomática o con diseminación asintomática del virus en la saliva.

La frecuencia de las infecciones recurrentes por HSV-1 varía entre los individuos. En un determinado momento, 1 a 5% de los adultos sanos excreta el virus, a menudo sin presentar síntomas clínicos.

El HSV-2 suele adquirirse como una enfermedad de transmisión sexual, de manera que los anticuerpos contra este virus pocas veces se encuentran antes de la pubertad. Se calcula que hay casi 40 a 60 millones de personas infectadas en Estados Unidos. Los estudios de prevalencia de anticuerpos se han complicado por la reactividad cruzada que hay entre los tipos 1 y 2 de HSV. En fecha reciente, por medio de estudios con antígenos glucoproteínicos con especificidad de tipo, se supo que 17% de los adultos estadounidenses tenía anticuerpos contra HSV-2 y su prevalencia era mayor en mujeres que en varones, en personas de raza negra que en caucásicos y dependía de la edad, pues alcanzó 56% en sujetos de raza negra de 30 a 49 años de vida.

La reactivación y la dispersión de partículas de forma asintomática ocurre con los virus HSV-1 y HSV-2. Estudios basados en la PCR indicaron reactivaciones subclínicas frecuentes en hospedadores con buena función inmunitaria, que duraron a menudo menos de 12 h. Las infecciones sintomáticas y asintomáticas permiten contar con un depósito de virus que se transmitirá a personas susceptibles. Los estudios han calculado que la transmisión del herpes genital en más de 50% se debió al contacto sexual sin que hubiese lesiones o síntomas.

Las infecciones genitales por HSV en la madre plantean un riesgo tanto para ella como para el feto. Pocas veces las embarazadas padecen una infección diseminada después de la infección primaria, que se acompaña de una gran tasa de mortalidad. La infección primaria antes de las 20 semanas de gestación se ha relacionado con aborto espontáneo. El feto puede

adquirir la infección como resultado de la diseminación viral proveniente de las lesiones recidivantes en el conducto del parto al momento del nacimiento. Las cifras de la frecuencia de diseminación del virus en el cuello uterino en las embarazadas son muy variables.

Las infecciones genitales por HSV aumentan la adquisición de las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1, pues las lesiones ulcerosas son orificios en la superficie mucosa.

Tratamiento, prevención y control

Varios fármacos antivirales han resultado eficaces contra las infecciones por HSV, entre ellos aciclovir, valaciclovir y vidarabina (capítulo 30). Todos son inhibidores de la síntesis de DNA viral. El aciclovir es un análogo nucleosídico que es monofosforilado por la timidina cinasa del HSV y luego se convierte en trifosfato por las cinasas celulares. El trifosfato de aciclovir se incorpora eficientemente en el DNA viral gracias a la acción de la HSV polimerasa, donde evita el alargamiento de la cadena. Los fármacos pueden suprimir las manifestaciones clínicas, abreviar el tiempo transcurrido hasta la cicatrización y disminuir las recurrencias de herpes genital. Sin embargo, HSV se mantiene latente en los ganglios sensoriales. Pueden surgir cepas de virus resistentes a los fármacos.

Los recién nacidos y las personas con eccemas se deben proteger del contacto con individuos que tienen lesiones herpéticas.

Debe informarse a los pacientes con herpes genital que la diseminación asintomática es frecuente y que el riesgo de transmisión se puede reducir mediante el tratamiento antiviral y el uso del preservativo.

Se están perfeccionando vacunas experimentales de diversos tipos. Un enfoque consiste en utilizar antígenos de glucoproteína purificada que se encuentran en la envoltura viral, los cuales se expresan en algunos sistemas recombinantes. Tales vacunas quizá sean útiles para la prevención de las infecciones primarias. Una promisoria vacuna a base de glucoproteína de HSV-2 obtenida por bioingeniería no evitó las infecciones por virus herpéticos en una gran investigación clínica realizada en 2010.

VIRUS DE VARICELA-ZÓSTER

La varicela es una enfermedad leve, muy contagiosa, que afecta principalmente a los niños, caracterizada por un exantema vesicular generalizado de la piel y las mucosas. La enfermedad puede ser grave en los adultos y en los niños inmunodeprimidos.

El herpes zóster es una enfermedad incapacitante esporádica que afecta a adultos o individuos inmunodeprimidos y que se caracteriza por un exantema de distribución limitada a la piel inervada por un solo ganglio sensorial. Las lesiones son similares a las de la varicela.

Las dos enfermedades son causadas por el mismo virus. La varicela es la enfermedad aguda que se presenta tras el contacto primario con el virus, en tanto que el zóster es la respuesta del hospedador parcialmente inmune ante la reactivación del virus de la varicela presente en forma latente en las neuronas de los ganglios sensoriales.

Propiedades del virus

El virus de varicela-zóster es idéntico desde el punto de vista morfológico al HSV. No tiene ningún reservorio animal. El virus se propaga en los cultivos de tejido embrionario humano y produce cuerpos de inclusión intranuclear característicos (figura 33-3B). Los cambios citopáticos son más focales y la diseminación es mucho más lenta que la producida por el HSV. El virus infeccioso se mantiene muy relacionado con la célula y la propagación serial se logra con más facilidad mediante el paso de las células infectadas que por los líquidos de cultivo de tejido.

El mismo virus produce varicela y zóster. Las cepas virales provenientes de las vesículas de los pacientes con varicela o zóster no muestran ninguna variación genética importante. La inoculación del líquido de la vesícula de zóster en los niños origina varicela.

Patogenia y anatomía patológica

A. Varicela

La vía de infección es la mucosa de las vías respiratorias superiores o la conjuntiva (figura 33-5). Después de la replicación inicial en los ganglios linfáticos regionales, la viremia primaria disemina el virus y lleva a su replicación en el hígado y el bazo. La viremia secundaria que afecta a las células mononucleares infectadas transporta el virus a la piel, donde sobreviene un exantema característico. El edema de las células epiteliales, la degeneración hidrópica y la acumulación de líquidos hísticos da por resultado la formación de vesículas (figura 33-6).

La replicación del virus de varicela-zóster y su diseminación se limitan gracias a las respuestas inmunitarias tanto humorales como celulares. Tal vez participe también el interferón; se ha demostrado que una proteína, ORF61 codificada por el virus de varicela-zóster, antagoniza la vía del interferón-β y ello tal vez contribuya a la patogenia de la infección viral.

B. Herpes zóster

Las lesiones cutáneas de zóster son idénticas desde el punto de vista histopatológico a las de la varicela. Asimismo, hay una inflamación aguda de los nervios sensoriales y los ganglios. A menudo sólo un ganglio puede estar afectado. Por regla general, la distribución de las lesiones en la piel corresponde con las zonas de inervación de un ganglio de la raíz dorsal individual.

No se ha esclarecido lo que desencadena la reactivación de las infecciones latentes por el virus de varicela-zóster en los ganglios. Se piensa que el desvanecimiento de la inmunidad permite que ocurra la replicación viral en un ganglio y que cause inflamación intensa y dolor. El virus viaja por todo el nervio hasta la piel y provoca la formación de vesículas. La inmunidad mediada por células probablemente es la defensa más importante del hospedador para contener el virus de varicela-zóster. Las reactivaciones son esporádicas y las recurrencias son infrecuentes.

Manifestaciones clínicas

A. Varicela

La varicela asintomática es infrecuente. El periodo de incubación de la enfermedad típica es de 10 a 21 días. Los síntomas más incipientes comprenden ataque al estado general y fiebre,

① Inhalación del virus de varicela zóster; infecta células de la mucosa de vías nasales y faringe.

② El virus infecta prácticamente todos los ganglios linfáticos, se replica y penetra en la corriente sanguínea (viremia primaria).

③ Hay infección de otras células corporales, con réplica en hígado y bazo, con lo cual surge viremia secundaria.

④ El virus ocasiona “brotes” sucesivos de exantemas de la piel que evolucionan hasta la forma de vesículas y costras.

⑤ El sistema inmunitario elimina la infección, excepto algunos viriones que se establecen en neuronas y causan infecciones latentes.

⑥ En caso de que disminuya la inmunidad con el envejecimiento o por otra causa, el virus que persiste en ganglios nerviosos infecta la piel y ocasiona herpes zóster.

⑦ La transmisión a terceros se produce a partir de secreciones del aparato respiratorio y la piel.

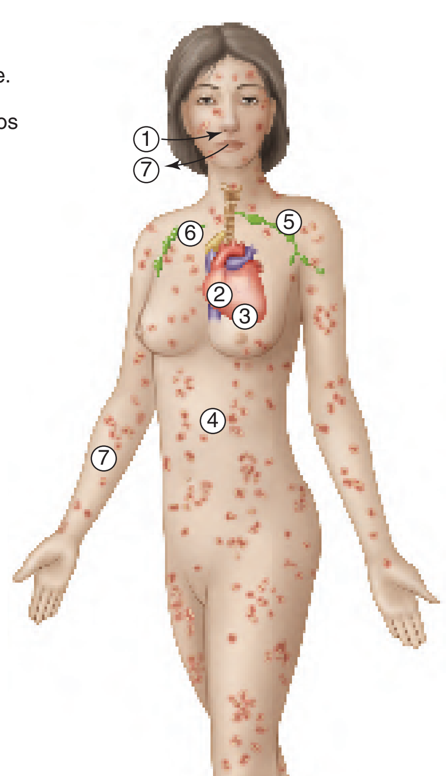


FIGURA 33-5 Patogenia de la infección primaria de virus de varicela-zóster. El periodo de incubación dura 10 a 21 días. La viremia secundaria hace que el virus sea transportado a piel y mucosa del aparato respiratorio, sitios en los cuales la réplica dentro de células epidérmicas origina el exantema característico (varicela). Se necesita la inmunidad con especificidad del virus de varicela-zóster para terminar la réplica viral. El virus penetra en las células de los ganglios de las raíces del trigémino y dorsal durante la infección primaria y entra en un periodo de latencia. (Con autorización de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE Jr, Nester MT (editors): *Microbiology: A Human Perspective,* 6a. ed. McGraw-Hill, 2009, p. 548 © The MacGraw-Hill Companies, Inc.)

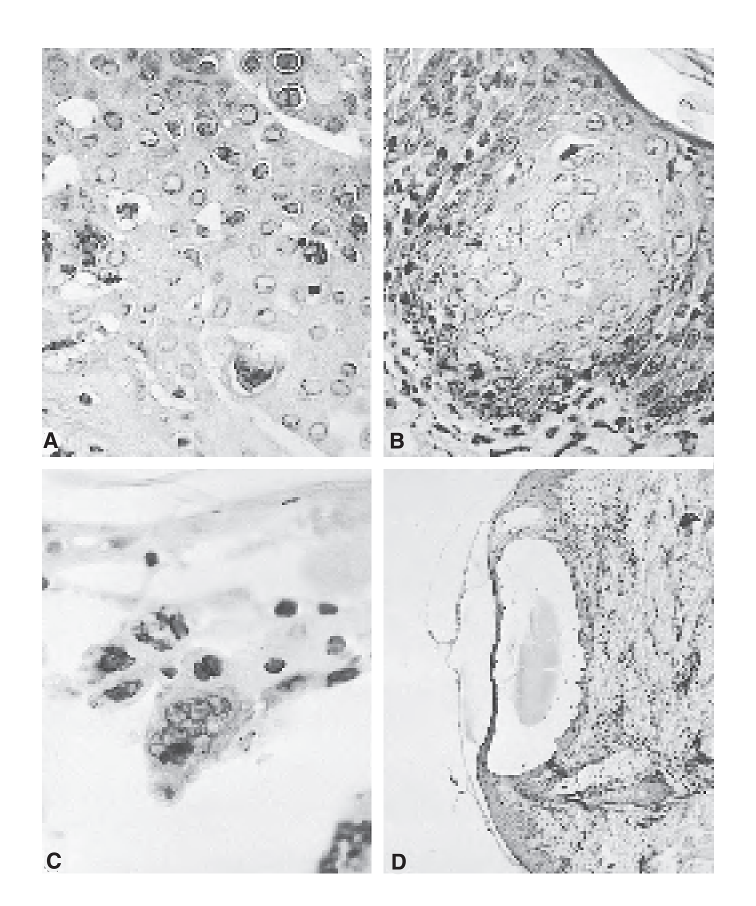


FIGURA 33-6 Cambios histológicos característicos de la infección por el virus de varicela-zóster. Las biopsias en sacabocado de las vesículas del virus de varicela-zóster fueron fijadas y teñidas con hematoxilina y eosina. **A:** Infección inicial que muestra “degeneración hidrópica” de células con núcleos basófilos y cromatina en los bordes (reducido desde 480x). **B:** Infección ulterior que muestra inclusiones intranucleares eosinófilas rodeadas por amplias zonas claras (reducido de 480x). **C:** Célula gigante multinucleada en el techo de una vesícula de varicela (reducido de 480x). **D:** Vista de poco aumento de una vesícula inicial que muestra la separación de la epidermis (acantólisis), edema dérmico e infiltración de células mononucleares (reducido de 40x). (Con autorización de Fields BN, Knipe DM (editors-in-chief). *Virology,* 2a. ed. Raven Press, 1990.)

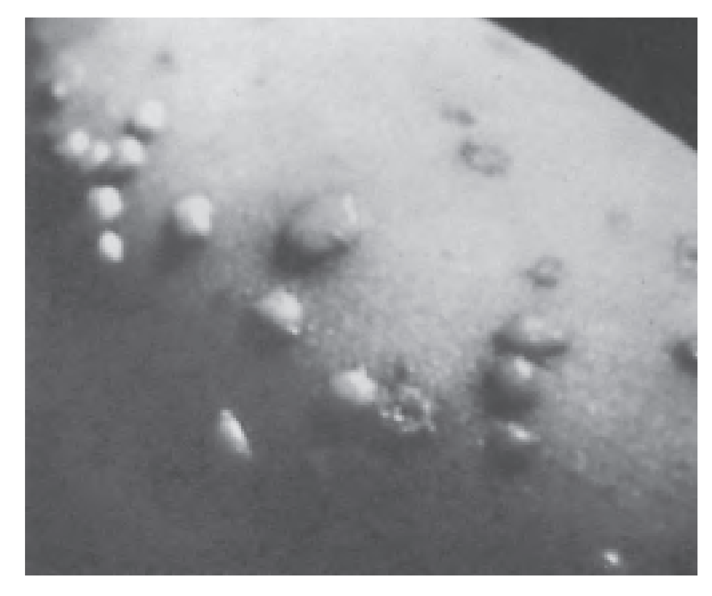


FIGURA 33-7 Lesiones cutáneas de la varicela en “bloques” en distintas fases. (Con autorización de Fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology,* 2a. ed. Raven Press, 1990.)

seguidos poco después de exantema, primero en el tronco y luego en la cara, las extremidades y la mucosa bucal y faríngea. Se desarrollan vesículas nuevas sucesivas en conglomerados, de manera que pueden verse al mismo tiempo todas las etapas de máculas, pápulas, vesículas y costras (figura 33-7). El exantema persiste por unos cinco días y la mayoría de los niños presenta varios centenares de lesiones cutáneas.

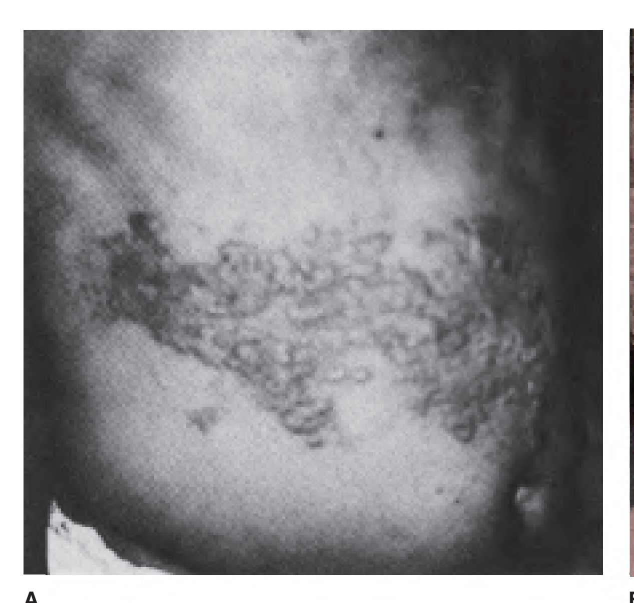
Las complicaciones son infrecuentes en los niños sanos y la tasa de mortalidad es muy baja. La encefalitis ocurre en casos raros y puede ser letal. Algunos de los sobrevivientes de la encefalitis por varicela quedan con secuelas permanentes. En la varicela neonatal, se contrae la infección de la madre inmediatamente antes o después del nacimiento, pero sin una respuesta inmunitaria suficiente para modificar la enfermedad. El virus suele diseminarse ampliamente y en ocasiones es letal. Se han descrito casos del síndrome de varicela congénita tras los casos maternos de varicela durante el embarazo.

La neumonía por varicela es infrecuente en niños sanos, pero es la complicación más común en recién nacidos, adultos y pacientes inmunodeprimidos. Es la causa de muchas muertes relacionadas con la varicela.

Los pacientes inmunodeprimidos tienen un mayor riesgo de padecer complicaciones de varicela, incluidos los sujetos con cáncer, receptores de órganos o infección por VIH y quienes reciben dosis altas de corticosteroides. Es posible que se presente coagulación intravascular diseminada que es rápidamente letal. Los niños con leucemia son muy propensos a presentar infección diseminada y grave por el virus de la varicela-zóster.

B. Herpes zóster

El herpes zóster suele presentarse en personas inmunodeprimidas como consecuencia de enfermedades, tratamiento o envejecimiento, pero a veces surge en adultos jóvenes sanos. Por lo general, comienza con dolor intenso en la zona de la piel o en la mucosa inervada por uno o más grupos de los nervios y ganglios sensoriales; por lo general es unilateral. A los pocos días después del inicio, se produce un racimo de vesículas sobre la piel inervada por los nervios afectados. Muy a menudo se afectan el tronco, la cabeza y el cuello (figura 33-8) y la división oftálmica del nervio trigémino se altera en 10 a 15% de los casos. La complicación más frecuente de zóster en las personas de edad avanzada es la neuralgia posherpética, dolor prolongado que puede continuar durante meses. Ésta es muy común después del zóster oftálmico. La afectación visceral, sobre todo la neumonía, es causa de muerte que ocurre en los pacientes inmunodeprimidos con zóster (< 1% de los enfermos).



A



B

FIGURA 33-8 **A:** Herpes zóster con distribución en nervios torácicos. (Cortesía de AA Gershon.) **B:** Herpes zóster oftálmico. (Cortesía de MN Oxman, University of California, San Diego. Reproducida de Prevention of herpes zóster. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices [ACIP]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57[RR-5]:1.)

apter 33_Carroll_4R.indd 468 15/04/16

La varicela-zóster del SNC, expresada más a menudo en la forma de meningitis, suele manifestarse al inicio sin el típico exantema del zóster.

Inmunidad

Los virus de la varicela y del zóster son idénticos y las dos enfermedades son resultado de diferentes respuestas del hospedador. Se cree que la infección previa con varicela confiere una inmunidad de por vida contra ella. Los anticuerpos estimulados por la vacuna contra la varicela persisten durante un mínimo de 20 años. El herpes zóster se desarrolla en presencia de anticuerpos neutralizantes contra la varicela.

Con infecciones por HSV, pueden observarse incrementos de la concentración de anticuerpos contra la varicela.

El desarrollo de inmunidad mediada por células específicas contra el virus de varicela-zóster es importante en el restablecimiento tanto de la varicela como del zóster. La presencia del interferón local también contribuye al restablecimiento.

El virus de varicela-zóster, al igual que otros herpesvirus, codifica medios para evadir las respuestas inmunitarias del hospedador. Por ejemplo, disminuye la expresión de los antígenos clase I y II del complejo mayor de histocompatibilidad y la vía del interferón-β.

Diagnóstico de laboratorio

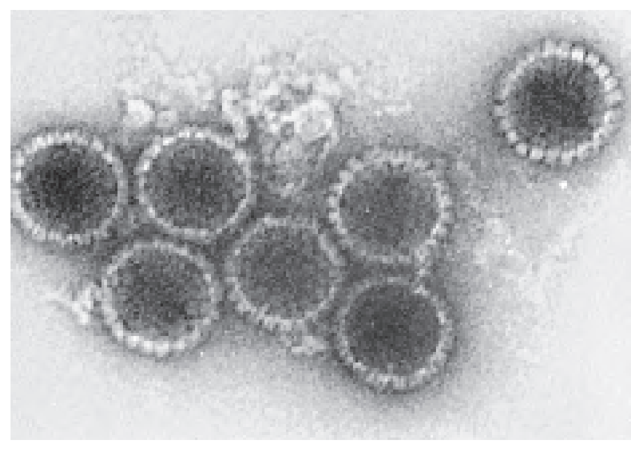
Los métodos diagnósticos rápidos tienen utilidad clínica en el caso del virus de varicela-zóster. La detección de antígenos por medio de fluorescencia directa y técnicas de PCR, es útil por su sensibilidad, especificidad y rapidez. Se detecta DNA viral en líquido de vesículas, material cutáneo obtenido por raspaduras, LCR, líquidos corporales y muestras de tejidos.

En frotis teñidos de raspaduras o de material de la base de las vesículas obtenido con aplicador (frotis de Tzanck), se identifican células gigantes multinucleadas (figura 33-6); éstas no se presentan en las vesículas no herpéticas. Se puede demostrar la presencia de antígenos virales intracelulares por medio de tinción a base de inmunofluorescencia de extensiones similares. Es posible diferenciar los herpesvirus de los poxvirus, por su aspecto morfológico de partículas en líquidos vesiculares estudiados con microscopia electrónica (figura 33-9).

El virus se puede aislar del líquido vesicular en las primeras etapas de la evolución de la enfermedad mediante cultivos de células humanas durante tres a siete días. El virus de varicela-zóster y el líquido de vesículas son muy lábiles, y los cultivos no son particularmente sensibles.

La PCR de VZV es el método preferido para diagnosticar encefalitis por dicha partícula. Sin embargo, a veces no se detecta el DNA viral en LCR para la fecha en que se desarrolla el cuadro patológico. Algunos estudios han demostrado que la inclusión de anticuerpos de tipo IgM en LCR a VZV mejora la sensibilidad del diagnóstico.

Es posible detectar una elevación de las concentraciones de anticuerpo específico en el suero del paciente mediante diversas pruebas, como el anticuerpo fluorescente y el enzimoinmunoanálisis. La selección de la prueba depende del propósito de la misma y de los recursos de laboratorio disponibles. Es importante la inmunidad mediada por células, pero es difícil demostrarla.



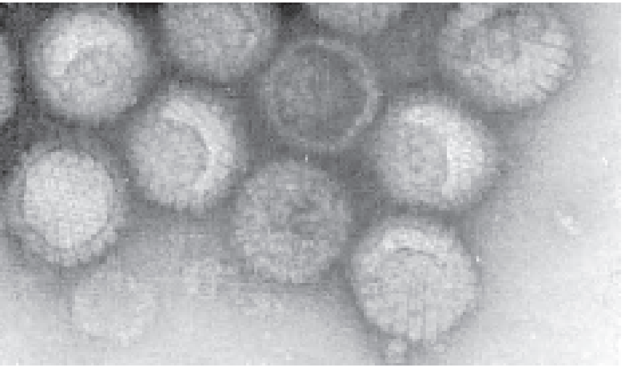


FIGURA 33-9 **Arriba:** Partículas de herpesvirus provenientes de líquido vesicular humano, teñidas con acetato de uranilo para demostrar el centro de DNA (140 000×). **Base:** Viriones teñidos para mostrar capsómeros de proteína de la cubierta del virus (140 000×). Nota: no se pueden distinguir los herpesvirus diferentes mediante microscopia electrónica. (Cortesía de KO Smith y JL Melnick.)

Epidemiología

La varicela y el herpes zóster se presentan en todo el mundo. La varicela es muy contagiosa y es una enfermedad epidémica frecuente de la niñez (la mayoría de los casos ocurre en los niños menores de 10 años de edad). También se producen casos en adultos. Es mucho más frecuente en el invierno y en la primavera que en el verano en climas templados. El herpes zóster surge de forma esporádica, principalmente en adultos y carece de prevalencia estacional. Aproximadamente entre 10 y 20% de los adultos experimenta por lo menos un episodio de zóster durante su vida, por lo general después de los 50 años de edad.

Se dispone de una vacuna contra la varicela de virus vivos atenuados. En la época previa a la vacuna, la varicela era causa de casi 4 millones de enfermedades, 11 000 hospitalizaciones y 100 fallecimientos por año en Estados Unidos. Desde que se introdujo la vacuna en 1995, ha disminuido de manera constante la incidencia de enfermedades variceliformes; sin embargo, no han cesado los brotes de dicha enfermedad entre niños en edad escolar porque algunos no están vacunados; una sola dosis de la vacuna muestra eficacia de 80 a 85% en personas vacunadas.

La varicela se propaga con facilidad por gotitas que viajan en el aire o por contacto directo. Es probable que una persona con varicela sea infectante (capaz de transmitir la enfermedad) desde poco antes de que se desarrolle la erupción hasta

los primeros días en que ésta surgió. La infección por contacto es menos habitual en el zóster, tal vez porque el virus no se encuentra en la zona superior de las vías respiratorias en casos típicos. Los sujetos con herpes zóster pueden ser el origen de la varicela en niños susceptibles quizá porque en su saliva se halla el DNA viral. El paciente en quien se sospecha la presencia de enfermedad por VZV debe someterse a medidas de precaución contra microorganismos en el aire, en el entorno hospitalario, para no infectar a otros pacientes susceptibles. Se ha detectado DNA de virus de la varicela-zóster con la utilización de un método de amplificación de PCR, en muestras de aire de salas de hospitalización de pacientes con varicela activa (82%) e infecciones por zóster (70 por ciento).

Tratamiento

La varicela en niños sanos es una enfermedad leve y no necesita tratamiento. Se debe tratar a los recién nacidos y a los pacientes inmunodeprimidos con infecciones graves.

La globulina γ de la concentración alta de anticuerpo contra el virus de varicela-zóster (inmunoglobulina de varicela-zóster) se puede utilizar para evitar el desarrollo de la enfermedad de los pacientes expuestos a la varicela que tienen un riesgo elevado de presentar enfermedad grave. Dicha globulina no tiene ninguna utilidad terapéutica una vez que ha comenzado la varicela. La inmunoglobulina estándar carece de valor debido a la baja concentración de anticuerpos de varicela. En la actualidad, se cuenta con un concentrado inmunoglobulínico contra varicela-zóster para profilaxia después de exposición de pacientes de alto riesgo que no tienen manifestaciones serológicas de inmunidad.

Varios compuestos antivirales proporcionan un tratamiento eficaz para la varicela, entre ellos, aciclovir, valaciclovir, famciclovir y foscarnet. El aciclovir puede prevenir el desarrollo de enfermedad generalizada en pacientes inmunodeprimidos infectados con varicela y puede detener la evolución del zóster en los adultos. Al parecer, aciclovir no evita la neuralgia posherpética.

Prevención y control

Una vacuna contra la varicela de microorganismos vivos atenuados fue autorizada en 1995 para uso general en Estados Unidos. Se ha utilizado con éxito una vacuna similar en Japón durante casi 30 años. Una sola dosis de la vacuna es muy eficaz para inducir protección contra varicela en niños (80 a 85% de eficacia), pero la tasa es menor en adultos (70%). La vacuna tiene una eficacia aproximada de 95% para evitar enfermedad grave. Aproximadamente 5% de las personas termina por mostrar una erupción leve que acompaña a la aplicación de la vacuna un mes después de la vacunación. En 2006, se recomendó usar dos dosis de la vacuna en niños, plan posológico cuya eficacia, según algunas publicaciones, es mayor de 98% para evitar la enfermedad de la varicela. La transmisión del virus de variolovacuna es rara, pero puede surgir cuando el vacunado tiene un exantema. Se desconoce la duración de la inmunidad protectora inducida por la vacuna, pero posiblemente es por tiempo prolongado. Las infecciones de varicela pueden surgir en sujetos vacunados, pero por lo regular en la forma de cuadros clínicos menos intensos.

La vacuna contra el herpes zóster (boqueras) recibió la aprobación para su distribución en Estados Unidos en 2006. Hoy día, se cuenta con una modalidad de la vacuna contra varicela 14 veces más potente. Se ha demostrado que es eficaz en adultos mayores para reducir tanto la frecuencia de los brotes de zóster como la gravedad de la enfermedad que se presenta. Se recomienda la vacuna contra zóster en pacientes con trastornos médicos crónicos y en sujetos mayores de 60 años de edad.

CITOMEGALOVIRUS

Los citomegalovirus son herpesvirus ubicuos que constituyen causas frecuentes de enfermedad humana. CMV es la causa más común de infección congénita y ocasiona anomalías graves. La infección asintomática es frecuente en la niñez y la adolescencia. Con frecuencia, se identifican infecciones graves por CMV en adultos inmunodeprimidos.

Las infecciones por CMV se manifiestan en la forma de un cuadro por citomegalovirosis cuyo nombre proviene de la propensión que existe para el agrandamiento masivo de células infectadas por CMV, con cuerpos de inclusión intranucleares.

Propiedades del virus

Los citomegalovirus tienen el máximo contenido genético de los herpesvirus humanos. Su genoma de DNA (240 kbp) es significativamente mayor que el de HSV. Sólo se han descrito algunas de las numerosas proteínas codificadas por el virus (alrededor de 200). Una de ellas, una glucoproteína de la superficie celular, actúa como un receptor de Fc que de manera inespecífica se une a la porción Fc de las inmunoglobulinas. Esto puede ayudar a las células infectadas a evadir la eliminación inmunitaria al proporcionar una cubierta protectora de inmunoglobulinas irrelevantes del hospedador.

El principal promotor-intensificador inmediato inicial del citomegalovirus es uno de los intensificadores más potentes conocidos, dada la concentración de los sitios de unión para los factores de transcripción celular. Se utiliza en condiciones experimentales para respaldar la expresión de alto grado de genes ajenos.

Muchas cepas genéticamente diferentes de CMV circulan en la población humana. Sin embargo, las cepas suelen guardar suficiente similitud antigénica, al grado que las diferencias de esta característica de cada una quizá no constituyan factores determinantes de enfermedades de seres humanos.

Los CMV son muy específicos de especie y específicos de tipo celular. Todos los intentos de infectar a los animales con CMV humano han fracasado. Existen diversos CMV animales, todos los cuales son específicos de especie.

El CMV humano se replica *in vitro* sólo en fibroblastos humanos, aunque el virus suele aislarse de células epiteliales del hospedador. El CMV se replica muy lentamente en células cultivadas y el crecimiento procede con más lentitud que el de HSV o el del virus varicela-zóster. Muy pocos virus se separan de las células; la infección se disemina principalmente de una célula a otra. Es posible que se requieran varias semanas para que resulte afectada toda una monocapa de células cultivadas.

El CMV produce un efecto citopático característico (figura 33-3C). Se forman inclusiones citoplásmicas perinucleares

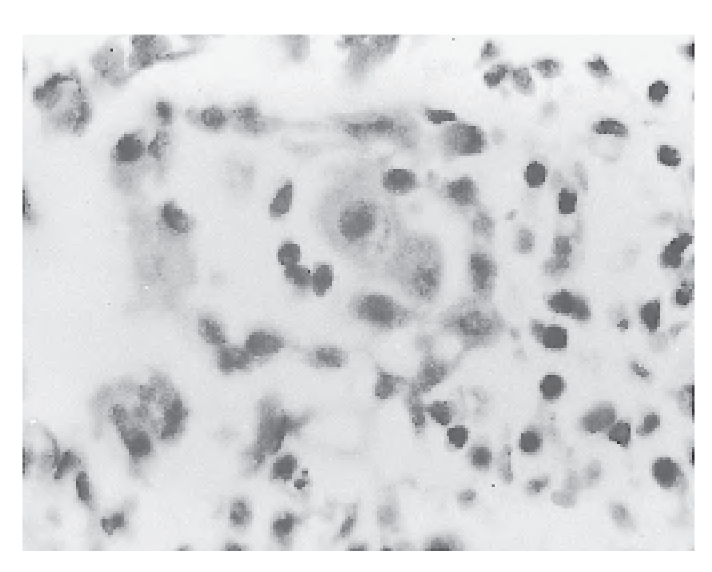


FIGURA 33-10 Células citomegálicas aumentadas de tamaño de forma masiva, típicas de la infección por citomegalovirus presente en el pulmón de un lactante prematuro que murió por citomegalia diseminada. (Cortesía de GJ Demmler.)

además de las inclusiones intranucleares características de los herpesvirus. Se observan células multinucleadas. Muchas células afectadas adquieren un gran tamaño. Las células citomegálicas que tienen inclusiones pueden detectarse en muestras de personas infectadas (figura 33-10).

Patogenia y anatomía patológica

A. Hospedadores sanos

El CMV puede transmitirse de persona a persona de varias maneras diferentes y todas requieren un contacto estrecho con el material que contiene el virus. Hay un periodo de incubación de cuatro a ocho semanas en niños mayores y adultos sanos después de la exposición al virus. Éste produce una infección generalizada y se ha aislado de pulmón, hígado, esófago, colon, riñones, monocitos y linfocitos T y B. La enfermedad es un síndrome parecido a la mononucleosis infecciosa, aunque la mayor parte de las infecciones por CMV son subclínicas. Al igual que todos los herpesvirus, el CMV establece infecciones latentes de por vida. Es posible que los virus se eliminen de forma intermitente de la faringe y por la orina durante meses a años después de la infección primaria (figura 33-11). La infección prolongada del riñón por CMV no parece ser nociva en personas sanas. La afectación de las glándulas salivales es frecuente y probablemente crónica.

La inmunidad mediada por células está deprimida en las infecciones primarias (figura 33-11) y esto puede contribuir a la persistencia de la infección viral. En ocasiones, se requieren varios meses para el restablecimiento de las respuestas celulares.

B. Hospedadores inmunodeprimidos

Las infecciones primarias por CMV en hospedadores inmunodeprimidos son mucho más graves que en los hospedadores sanos. Las personas con máximo riesgo para la enfermedad por dicho virus son las receptoras de órganos, las que tienen tumores malignos que están recibiendo quimioterapia y quienes padecen sida. La excreción viral se incrementa y se prolonga, y la infección tiene más posibilidades de diseminarse. La neumonía es la complicación más común.

Se supone que la respuesta inmunitaria del hospedador mantiene al CMV en un estado latente en individuos seropositivos. Las infecciones reactivadas se relacionan con la enfermedad con mucha más frecuencia en sujetos inmunodeprimidos que en hospedadores sanos. Aunque por lo general menos graves, las infecciones reactivadas pueden ser tan virulentas como las infecciones primarias.

C. Infecciones congénitas y perinatales

Las infecciones fetales y neonatales por CMV pueden ser graves (figura 33-12). Casi 1% de los recién nacidos vivos cada año en Estados Unidos tiene infecciones congénitas por CMV y alrededor de cinco a 10% de ellos padecerá citomegalia. Un elevado porcentaje de los lactantes con esta enfermedad mostrará anomalías del desarrollo y retraso mental.

El virus puede transmitirse por vía intrauterina tanto en las infecciones maternas primarias como en las reactivadas. Alrededor de 33% de las embarazadas con infección primaria transmite el virus. La citomegalia generalizada muy a menudo es resultado de infecciones maternas primarias. No hay evidencia de que la edad gestacional al momento de la infección materna afecte la expresión de la enfermedad en el feto. La transmisión intrauterina ocurre en cerca de 1% de las mujeres seropositivas. El daño fetal raras veces se debe a estas infecciones maternas reactivadas; la infección del lactante sigue siendo leve aunque crónica (figura 33-11).

También es posible que el lactante adquiera el CMV por la exposición al virus en el aparato genital de la madre durante el parto y a través de la leche materna. En estos casos, los lactantes por lo general han recibido algunos anticuerpos maternos y las infecciones por CMV adquiridas en el periodo perinatal tienden a ser asintomáticas. Las infecciones por CMV adquiridas a través de transfusiones en los recién nacidos son variables y dependen de la cantidad de virus que se reciba y del estado serológico del donador de sangre. Si el CMV se adquiere dentro del útero o durante el periodo perinatal, sobreviene una infección más crónica, respecto a la excreción viral, que cuando el virus se adquiere a una edad ulterior (figura 33-11).

Manifestaciones clínicas

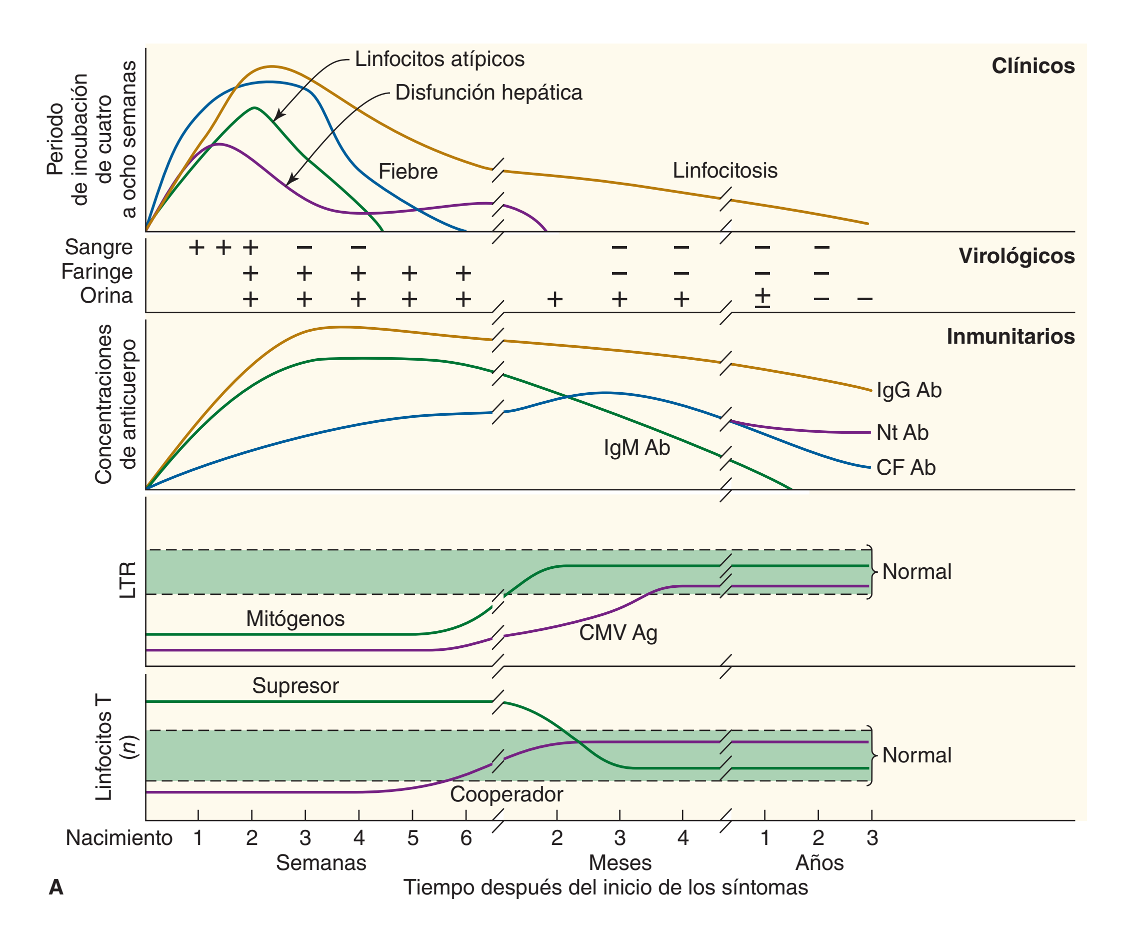
A. Hospedadores sanos

La infección primaria por citomegalovirus en los niños mayores y adultos suele ser asintomática, pero a veces produce un síndrome de mononucleosis infecciosa espontánea. Se calcula que el CMV causa 20 a 50% de los casos de mononucleosis heterófilos negativos (no EBV).

La mononucleosis por citomegalovirus es una enfermedad leve y pocas veces se presentan complicaciones. Es frecuente la hepatitis asintomática. En los niños más pequeños (menores de siete años de edad) a menudo se observa hepatoesplenomegalia.

B. Hospedadores inmunodeprimidos

Hay un incremento de las tasas de morbilidad y mortalidad por infecciones primarias y recurrentes por CMV en personas



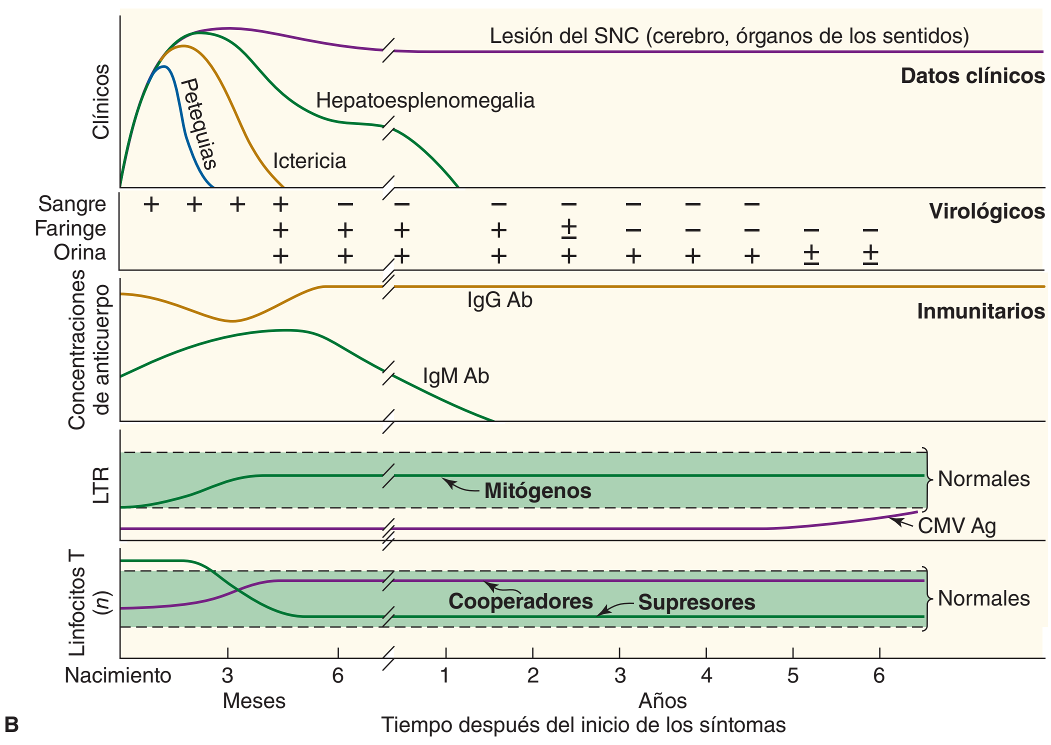


FIGURA 33-11 Características clínicas, virológicas e inmunitarias de la infección por virus citomegálico en personas sanas **A:** y en lactantes infectados de forma congénita **B:** Ab, anticuerpo; Ag, antígeno; CF, fijación de complemento; CMV, citomegalovirus; SNC, sistema nervioso central; Ig, inmunoglobulina; LTR, respuesta de transformación de linfocitos; Nt, neutralizante. (Con autorización de Alford CA, Britt WJ: Cytomegalovirus. En Fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology*; 2a. ed. Raven Press, 1990.)

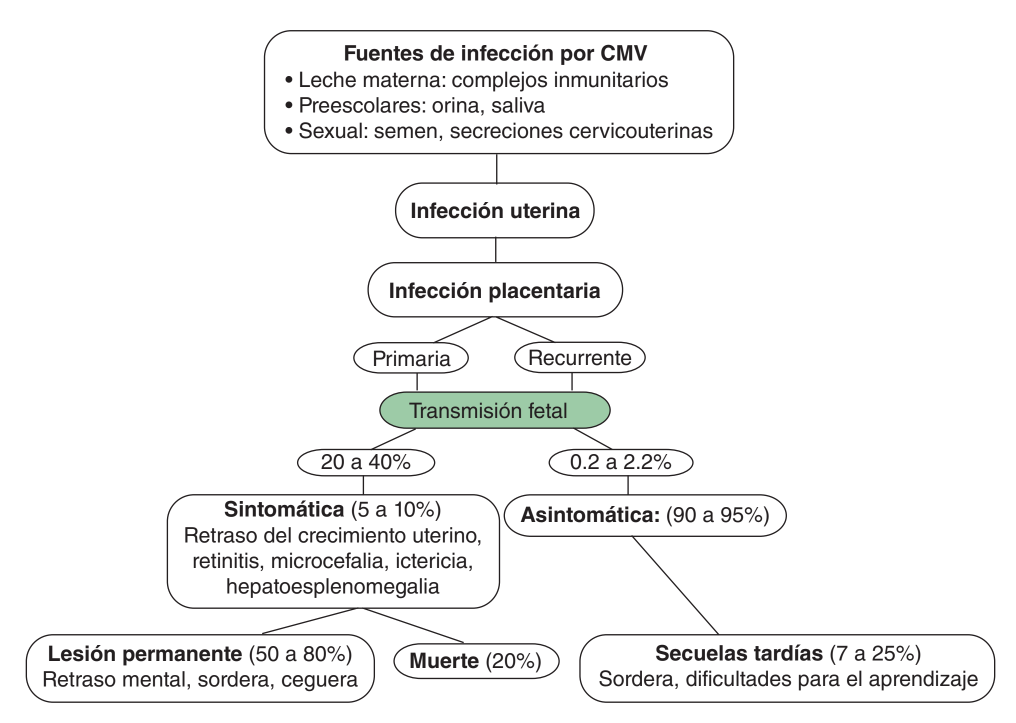


FIGURA 33-12 Infecciones congénitas por citomegalovirus y efectos neonatales en niños sintomáticos y asintomáticos. La infección por citomegalovirus es el trastorno intrauterino más frecuente, que puede ocasionar anomalías congénitas. (Con autorización de Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Tabata T: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. *Trends Microbiol* 2005;13:164-174. Copyright Elsevier.)

inmunodeprimidas. El virus puede limitarse a un solo órgano y ocasionar neumonía, colitis, retinitis o hepatitis, o producir infección diseminada. La reactivación viral se desarrolla por lo general en receptores de médula ósea en trasplante. La leucopenia relacionada con el virus es frecuente en receptores de órganos sólidos; también se observa bronquiolitis obliterante en trasplantes pulmonares, ateroesclerosis del injerto después de un trasplante cardiaco y rechazo de aloinjertos renales relacionados con citomegalovirus. El CMV a menudo produce enfermedad diseminada en pacientes con sida no tratados; son problemas frecuentes la colitis y la coriorretinitis; esta última a menudo desencadena ceguera progresiva.

C. Infecciones congénitas y perinatales

La infección congénita puede ocasionar la muerte del feto dentro del útero (figura 33-12). La citomegalia de los recién nacidos se caracteriza por la afectación del sistema nervioso central y el sistema reticuloendotelial. Las manifestaciones clínicas consisten en retraso del crecimiento intrauterino, ictericia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, microcefalia y retinitis. Las tasas de mortalidad ascienden a casi 20%. La mayoría de los sobrevivientes presenta alteraciones importantes del sistema nervioso central al cabo de dos años; son frecuentes la sordera grave, las anomalías oculares y el retraso mental. Alrededor de 10% de los lactantes con infección congénita por CMV asintomática genera sordera. Se ha calculado que 1 de cada 1 000 recién nacidos en Estados Unidos presenta retraso grave como consecuencia de una infección por CMV congénita.

Muchas mujeres infectadas previamente con CMV muestran reactivación y comienzan a excretar el virus por el cuello uterino durante el embarazo. En el momento del parto a través del conducto del parto infectado, los lactantes se infectan aunque poseen altas concentraciones de anticuerpos maternos adquiridos a través de la placenta. Estos lactantes comienzan a diseminar el virus más o menos a las ocho a 12 semanas de edad y continúan excretándolo durante varios años, pero se mantienen sanos.

La infección adquirida por CMV es frecuente y casi nunca se manifiesta. El virus se disemina por la saliva y la orina de personas infectadas durante semanas o meses. El CMV puede ser una causa de neumonía aislada en lactantes menores de seis meses de edad.

Inmunidad

En Estados Unidos, los anticuerpos contra CMV en los seres humanos aumentan con la edad, desde casi 40% en adolescentes a más de 80% en personas mayores de 60 años de edad. La reactivación de la infección latente ocurre en presencia de inmunidad humoral. Los anticuerpos de la leche materna no evitan la transmisión de la infección a los lactantes que reciben seno materno. Los anticuerpos maternos protegen más contra el desarrollo de enfermedad grave en el lactante que contra la transmisión viral.

Diagnóstico de laboratorio

A. Reacción en cadena de la polimerasa y análisis de detección de antígeno

Las técnicas de PCR se utilizan para detectar virus circulantes en la sangre, en LCR y en orina. Con tales técnicas se pueden obtener datos cuantitativos de la carga viral que podrán

utilizarse para el pronóstico de la enfermedad por CMV en pacientes inmunodeficientes. Es posible utilizar los anticuerpos monoclonales contra los antígenos virales para detectar leucocitos positivos para el virus en los pacientes.

B. Aislamiento del virus

Se utilizan fibroblastos humanos para tratar de aislar el virus. El virus puede obtenerse con facilidad de los lavados faríngeos y de la orina. En los cultivos, suelen necesitarse dos a tres semanas para que se desarrollen los cambios citológicos, los cuales consisten en pequeños focos de células hinchadas y translúcidas con grandes inclusiones intranucleares (figuras 33-3C y D). Los cultivos después de centrifugación permiten la detección del antígeno de CMV y para ello se utilizan anticuerpos fluorescentes antes de que surja el efecto citopático, y así alcanzar un diagnóstico más rápido.

C. Análisis serológico

Muchos tipos de análisis permiten detectar anticuerpos IgG contra CMV, los cuales indican una infección previa (y el potencial de que se experimente reactivación). La detección de anticuerpos IgM virales señala una infección activa. Los análisis serológicos no son informativos en los pacientes inmunodeprimidos. Asimismo, las técnicas serológicas no permiten distinguir las diferencias de cepas entre las aisladas.

D. Valoración de resistencia

La técnica de valoración de resistencia de CMV comprende la secuenciación de los genes de cinasa viral (UL97) y DNA polimerasa (UL54) y comparar con una base de datos de mutaciones de resistencia identificadas. Las mutaciones en UL97 confieren resistencia al ganciclovir, en tanto que las UL54 tienen tal función en el caso de ganciclovir, cidofovir y foscarnet.

Epidemiología

El CMV es endémico en todas las partes del mundo; se desconocen las epidemias. Se presenta durante todo el año y no se observa ninguna variación estacional en las tasas de infección.

La prevalencia de la infección varía según la posición socioeconómica, las condiciones de vivienda y las prácticas de higiene. La prevalencia de anticuerpo puede ser moderada (40 a 70%) en los adultos de grupos socioeconómicos altos de los países desarrollados, en contraste con una prevalencia de 90% en niños y adultos de países en desarrollo y de grupos socioeconómicos bajos en los países desarrollados.

Las infecciones nuevas casi siempre son asintomáticas. Después de la infección, el virus se propaga desde múltiples sitios. La diseminación viral puede continuar durante años, a menudo de manera intermitente, conforme se reactiva el virus latente. Por consiguiente, las exposiciones a CMV son amplias y frecuentes.

Los seres humanos son el único hospedador del CMV. Para la transmisión es necesario el contacto interpersonal estrecho. El virus puede eliminarse por orina, saliva, semen, leche materna y secreciones cervicouterinas y es transportado en los leucocitos circulantes. La diseminación oral y respiratoria probablemente son las vías predominantes de la transmisión de CMV. Éste se transmite por transfusión sanguínea, aunque el riesgo disminuye en el caso de hemoderivados con disminución del número de leucocitos. Las personas seronegativas que han recibido un órgano sólido en trasplante están expuestas a un gran riesgo de infección si reciben un órgano de un individuo seropositivo.

La infección intrauterina puede producir enfermedad grave en el recién nacido. Casi 1% de los lactantes nacidos en Estados Unidos se infecta por CMV. La mayoría tiene infecciones leves, pero crónicas; 5 a 10% padece citomegalia con alteraciones concomitantes del desarrollo y una elevada tasa de mortalidad. Un número mucho mayor de lactantes se infecta con CMV en los primeros meses de vida, a menudo por leche materna infectada o por el contagio en las guarderías. La mayor parte de estas infecciones es leve, pero por lo general es crónica y hay una diseminación persistente del virus.

Muchas estadounidenses en edad de procreación muestran un riesgo persistente de infección primaria por CVM durante el embarazo. La transmisión intrauterina ocurre en casi 40% de las infecciones primarias de las madres. Tales infecciones maternas primarias durante el embarazo son causa de casi todos los casos de citomegalia. Otras infecciones congénitas son causadas por reactivaciones de infecciones latentes de la embarazada, y la transmisión es poco común (cerca de 1%) gracias al efecto protector de los anticuerpos maternos.

Las infecciones por CMV se incrementan mucho en pacientes inmunodeprimidos; los receptores de trasplante a menudo presentan infecciones, la mayor parte de las cuales se debe a reactivaciones de sus propios virus latentes.

Tratamiento y control

Se ha demostrado que los tratamientos farmacológicos de las infecciones por CMV producen algunos resultados alentadores. El ganciclovir, un nucleósido estructuralmente relacionado con aciclovir, se ha utilizado de modo eficaz para tratar las infecciones por CMV que ponen en riesgo la vida en pacientes inmunodeprimidos. La gravedad de la retinitis por dicho virus, la esofagitis y la colitis se reduce con ganciclovir. Además, el tratamiento inicial con este último fármaco disminuye la frecuencia de CMV diseminado en receptores de aloinjerto de médula ósea. Ganciclovir también controla la sordera progresiva en recién nacidos con infecciones congénitas. Cidofovir, un inhibidor nucleotídico de la polimerasa, y foscarnet, un análogo del pirofosfato inorgánico, se recomiendan para tratar tanto la retinitis por CMV como las cepas de CMV resistentes al ganciclovir. El aciclovir y el valaciclovir han demostrado algunas ventajas en los pacientes con trasplante de médula ósea y renal.

No se dispone de medidas de control específicas para evitar la diseminación de CMV. Es recomendable el aislamiento de los recién nacidos con citomegalovirosis transmitida por otros recién nacidos.

La detección sistemática de los donadores y los receptores de trasplante para identificar anticuerpos contra CMV evita algunas transmisiones de CMV primario. La población de receptores de trasplante seronegativos para CMV constituye un grupo de alto riesgo para infecciones por dicho virus. Las personas a quienes se trasplantará un órgano sólido pueden recibir en forma profiláctica ganciclovir para evitar que surja y se desarrolle la enfermedad por CMV; tal planteamiento debe

ser comparado con la propensión del ganciclovir a ocasionar leucopenia. La administración de IgG humana preparada a partir de reservas de plasma obtenidas de personas sanas con altas concentraciones de anticuerpos contra CMV (inmunoglobulina de CMV) ha producido resultados contradictorios en las pruebas para disminuir la frecuencia de las infecciones virales en los receptores de trasplante. La inmunoglobulina de CMV tiene un abastecimiento escaso.

Se ha recomendado el empleo de sangre de donadores seronegativos cuando los lactantes necesitan transfusiones múltiples, o para pacientes a quienes se trasplantará médula ósea.

Se están perfeccionando vacunas contra CMV tanto de microorganismos vivos, como recombinantes.

VIRUS DE EPSTEIN-BARR

El virus EBV es un herpesvirus ubicuo que es el agente causal de la mononucleosis infecciosa aguda y se relaciona con carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin y linfomas no-Hodgkin, otros trastornos linfoproliferativos en individuos inmunodeprimidos y carcinoma gástrico.

Propiedades del virus

El genoma de DNA del EBV contiene alrededor de 172 kbp, presenta un contenido de G + C de 59% y codifica unos 100 genes. Hay dos cepas principales de EBV (tipos A y B).

A. Biología del virus de Epstein-Barr

La principal célula afectada por el EBV es el linfocito B. Cuando los linfocitos B humanos se infectan con EBV, se pueden establecer estirpes celulares continuas, lo cual indica que las células han sido inmortalizadas por el virus. Muy pocas de las células inmortalizadas generan virus infecciosos. Las pruebas de laboratorio de EBV se dificultan por la falta de un sistema celular completamente permisivo que pueda propagar el virus.

El EBV inicia la infección de los linfocitos B al unirse al receptor viral, que es el receptor para el componente C3d del complemento (CR2 o CD21). El EBV entra de manera directa en un estado latente en el linfocito sin experimentar un periodo de replicación viral completa. Las características distintivas de la latencia son la persistencia viral, la expresión restringida del virus y el potencial de reactivación y replicación lítica.

La eficacia de la inmortalización del linfocito B por EBV es muy alta. Cuando el virus se une a la superficie celular, las células se activan para ingresar al ciclo celular. Después, se expresa una gama limitada de genes de EBV y las células pueden proliferar por tiempo indefinido. El genoma de EBV lineal forma un círculo y se amplifica durante la fase S del ciclo celular; la mayor parte del DNA viral en las células inmortalizadas existe como episomas circulares.

Los linfocitos B inmortalizados por EBV expresan diferentes funciones, como la secreción de inmunoglobulina. Los productos de activación del linfocito B (p. ej., CD23) también se expresan. Se reconocen varios patrones de expresión de genes virales latentes, con base en la gama de proteínas y transcritos expresados. Éstos comprenden los antígenos nucleares de EBV (EBNA1, 2, 3A a 3C, LP), proteínas de membrana latentes (LMP1, 2) y pequeños RNA no traducidos (EBER).

En un determinado momento, muy pocas células (< 10%) en una población inmortalizada liberan partículas virales. La latencia se altera y el genoma de EBV se activa para replicarse en una célula por diversos estímulos, como las sustancias químicas activadoras o el entrecruzamiento con la inmunoglobulina de la superficie celular.

El EBV se puede replicar *in vivo* en células epiteliales de la bucofaringe, glándulas parótidas y cuello uterino; se detecta en células epiteliales de algunos carcinomas nasofaríngeos. Las células epiteliales *in vivo* contienen un receptor de EBV, pero el receptor se pierde de las células cultivadas.

El EBV puede producir diversos trastornos linfoproliferativos. La expresión del gen viral en estas células es limitada y varía desde sólo EBNA1 hasta el complemento completo de proteínas que se encuentran en los linfocitos B con infección latente.

B. Antígenos virales

Los antígenos de EBV se dividen en tres clases, con base en la fase del ciclo vital del virus en la cual se expresan: 1) los antígenos de fase latente se sintetizan en las células con infección latente; éstos comprenden los EBNA y los LMP. Su expresión revela que hay un genoma de EBV; sólo se expresa de forma invariable EBNA1, necesario para mantener los episomas de DNA viral; la expresión de otros antígenos de fase latente puede ser regulada en diferentes células; LMP1 se parece a un receptor de factor de crecimiento activado; 2) los antígenos iniciales son proteínas no estructurales cuya síntesis no depende de la replicación de DNA viral; la expresión de los antígenos iniciales indica la presencia de la replicación viral productiva y 3) los antígenos tardíos son los componentes estructurales de la cápside viral (antígeno de la cápside viral) y la envoltura viral (glucoproteína). Se producen de manera abundante en las células sometidas a infección viral productiva.

C. Infecciones en animales de experimentación

El EBV es muy específico de especie en seres humanos. Sin embargo, los tamarinos cabeza de algodón inoculados con EBV a menudo presentan linfomas malignos letales.

Patogenia y anatomía patológica

A. Infección primaria

El EBV suele transmitirse por la saliva infectada e inicia una infección en la bucofaringe. La replicación viral ocurre en las células epiteliales (o los linfocitos B de la superficie) de la faringe y las glándulas salivales. Muchas personas propagan bajas concentraciones de virus durante semanas a meses después de la infección. Los linfocitos B infectados difunden la infección desde la bucofaringe a todo el organismo. En personas sanas, la mayor parte de las células infectadas con el virus se elimina, pero algunos linfocitos con infección latente persisten durante toda la vida en el hospedador (1 en 10^5 a 10^6 linfocitos B).

Las infecciones primarias en los niños suelen ser asintomáticas, pero si se presentan en adultos jóvenes a menudo sobreviene una mononucleosis infecciosa aguda. La mononucleosis es una estimulación policlonal de los linfocitos. Los linfocitos B infectados con EBV sintetizan inmunoglobulina. Los autoanticuerpos son característicos de la enfermedad y el

anticuerpo heterófilo que reacciona con los antígenos en los eritrocitos de carnero es el autoanticuerpo característico.

B. Reactivación a partir de la latencia

Se pueden presentar reactivaciones de las infecciones latentes por EBV, según se pone de manifiesto por un incremento de las concentraciones del virus en la saliva y en el DNA de los eritrocitos, lo cual suelen ser asintomático desde el punto de vista clínico. Se sabe que la inmunosupresión reactiva la infección, a veces con consecuencias graves.

Manifestaciones clínicas

La mayor parte de las infecciones primarias en los niños es asintomática. En los adolescentes y los adultos jóvenes, el síndrome característico relacionado con la infección primaria es la mononucleosis infecciosa (alrededor de 50% de las infecciones). El EBV también se relaciona con varios tipos de cáncer.

A. Mononucleosis infecciosa

Tras un periodo de incubación de 30 a 50 días, se presentan síntomas de cefalea, fiebre, ataque al estado general, fatiga y faringitis. Es característica la presencia de adenomegalia y esplenomegalia. Algunos pacientes presentan signos de hepatitis.

La enfermedad clásica suele desaparecer de modo espontáneo y dura dos a cuatro semanas. Durante la enfermedad, hay un incremento del número de leucocitos circulantes con predominio de linfocitos. Muchos de éstos son linfocitos T atípicos. La febrícula y el ataque al estado general pueden persistir durante semanas a meses después de la enfermedad aguda. Las complicaciones son infrecuentes en los hospedadores sanos.

B. Cáncer

El EBV se relaciona con el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo, el linfoma de Hodgkin y los linfomas no-Hodgkin y el carcinoma gástrico. Los trastornos linfoproliferativos postrasplante relacionados con EBV constituyen una complicación en los pacientes inmunodeprimidos. Los sueros de los sujetos con linfoma de Burkitt o carcinoma nasofaríngeo contienen concentraciones elevadas de anticuerpo contra los antígenos específicos de virus y los tejidos tumorales contienen DNA de EBV y expresan un número limitado de genes virales.

El linfoma de Burkitt es una neoplasia de linfocitos B cuya presentación inicial suele ser la de una masa en el maxilar inferior en niños africanos y adultos jóvenes (capítulo 43). La mayoría de los tumores en africanos (> 90%) contiene DNA de EBV y expresa antígeno EBNA1. En otros lugares del mundo, sólo cerca de 20% de los linfomas de Burkitt contiene DNA de EBV. Se especula que EBV puede participar en las etapas iniciales del linfoma de Burkitt al inmortalizar a los linfocitos B. El paludismo, un cofactor reconocido, puede favorecer el crecimiento del total de células infectadas por EBV. Por último, hay translocaciones cromosómicas características en las que participan genes de la inmunoglobulina y dan por resultado la pérdida del control de la expresión del protooncogén c-*myc*.

El carcinoma nasofaríngeo es un cáncer de células epiteliales y es frecuente en varones de origen chino. El DNA de EBV se encuentra con regularidad en las células de carcinoma nasofaríngeo y los pacientes tienen altas concentraciones de anticuerpos contra EBV. Se expresan EBNA1 y LPM1. Se piensa que los factores genéticos y ambientales son importantes en la patogenia del carcinoma nasofaríngeo.

Los pacientes inmunodeprimidos son susceptibles a las enfermedades linfoproliferativas provocadas por EBV que pueden ser letales. De 1 a 10% de los individuos con trasplante presenta un trastorno linfoproliferativo relacionado con EBV, a menudo al experimentar una infección primaria. Pueden presentarse linfomas de linfocitos B monoclonales agresivos.

Los pacientes con sida son susceptibles a los linfomas relacionados con EBV y leucoplasia vellosa bucal, una masa verrugoide que se produce en la lengua; es un foco epitelial de replicación de EBV. Prácticamente todos los linfomas no-Hodgkin del SNC se relacionan con la presencia de EBV, pero menos de 50% de los linfomas sistémicos muestran tal partícula. Además, el EBV se relaciona con la enfermedad de Hodgkin clásica, de manera que el genoma viral se detecta en las células malignas de Reed-Sternberg hasta en 50% de los casos.

Inmunidad

Las infecciones por EBV desencadenan una respuesta inmunitaria intensa que consta de anticuerpos dirigidos contra muchas proteínas específicas de virus, diversas respuestas mediadas por células y secreción de linfocinas. La inmunidad celular y los linfocitos T citotóxicos son importantes para limitar las infecciones primarias y controlar las infecciones crónicas.

Las pruebas serológicas para determinar el tipo de anticuerpos específicos a diferentes clases de antígenos de EBV constituyen el medio habitual de confirmar el estado de un paciente respecto a la infección por EBV.

Diagnóstico de laboratorio

A. Técnicas moleculares para identificación del virus

Por medio de las técnicas de PCR para identificar el DNA del virus EBV se detecta la partícula en sangre, líquidos corporales y tejidos. Por los métodos de PCR cuantitativos se conoce la evolución viral y se utilizan para la vigilancia del desarrollo y evolución tempranas de un trastorno linfoproliferativo después del trasplante (PTLD, *post-transplant lymphoproliferative disorder*) en personas trasplantadas. El estudio del plasma permitirá detectar la viremia en la circulación (vinculada a menudo con evolución de PTLD), en tanto que con sangre se podrá detectar EBV integrado dentro de genomas de WBC o infecciones latentes. Por medio de la hibridación de ácido nucleico se podrá detectar EBV en tejidos del paciente. El RNA de EBER se expresa de forma abundante en las células infectadas de manera latente y lítica, y proporcionan un objetivo diagnóstico útil para detectar células infectadas por EBV mediante hibridación. Es posible demostrar antígenos virales directamente en tejidos linfoides y en carcinomas nasofaríngeos. Durante la fase aguda de la infección, alrededor de 1% de los linfocitos circulantes tendrá marcadores de EBV; después de restablecerse de la infección, alrededor de uno de cada millón de linfocitos B portará el virus.

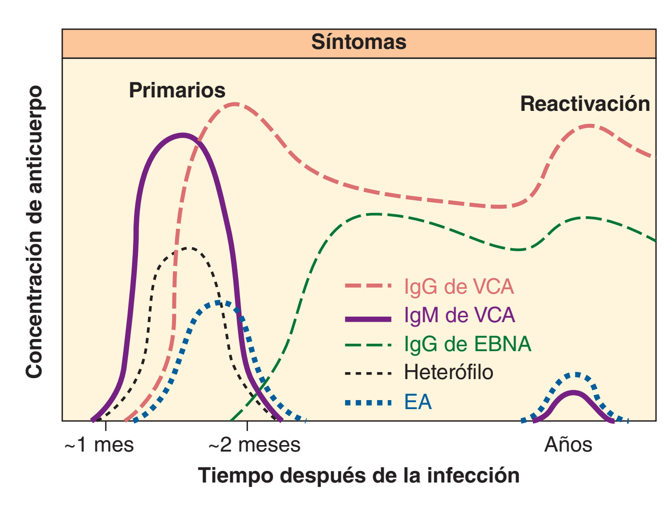


FIGURA 33-13 Patrón típico de formación de anticuerpos ante antígenos específicos del virus de Ebstein-Barr (EBV) después de una infección primaria. Los individuos con infección reciente tienen anticuerpos IgM e IgG contra el antígeno de la cápside viral (VCA, *viric capsid antigen*) (IgM de VCA, IgG de VCA); sólo los anticuerpos IgG persisten por años. Se desarrollan anticuerpos heterófilos transitorios que pueden aglutinar las células de carnero. Se forman anticuerpos contra los antígenos iniciales (EA, *early antigen*) en muchos pacientes y persisten por varios meses. Algunas semanas después de la infección aguda, se producen anticuerpos contra los antígenos relacionados con antígenos nucleares del virus de Epstein–Barr (EBNA, *Epstein–Barr virus nuclear antigens*) y antígenos de membrana y persisten de por vida. (Con autorización de Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagnost* 2008;10:279-292 con autorización de la *American Society for Investigative Pathology* y la *Association for Molecular Pathology*.)

B. Aislamiento del virus

El EBV se puede aislar de saliva, sangre periférica o tejido linfoide mediante la inmortalización de los linfocitos humanos normales, por lo general obtenidos de sangre del cordón umbilical. Este análisis es laborioso y tardado (seis a ocho semanas), exige recursos especializados y pocas veces se lleva a cabo. También es posible cultivar linfocitos B "transformados de forma espontánea" a partir de pacientes infectados con el virus. Cualquier agente inmortalizado que se obtenga se confirma como EBV mediante la detección de DNA de EBV o antígenos específicos del virus en los linfocitos inmortalizados.

C. Análisis serológico

Los procedimientos serológicos frecuentes para detectar anticuerpos contra EBV son las pruebas de ELISA, las pruebas de inmunotransferencia y las inmunofluorescentes indirectas que utilizan células linfoides positivas para EBV.

En la figura 33-13, se muestra el patrón típico de respuestas de anticuerpo a antígenos específicos de EBV después de una infección primaria. En las primeras etapas de la enfermedad aguda, ocurre una elevación transitoria de los anticuerpos IgM contra el antígeno de la cápside viral (VCA), que es sustituida a las pocas semanas por anticuerpos IgG contra este antígeno, el cual persiste de por vida. Poco después, se desarrollan anticuerpos contra el antígeno inicial que persisten por varios meses. Varias semanas después de la infección aguda, surgen anticuerpos contra EBNA y el antígeno de membrana y persisten de por vida.

La prueba de aglutinación heterófila menos específica se puede utilizar para diagnosticar infecciones por EBV. Durante el curso de la mononucleosis infecciosa, la mayoría de los pacientes presenta anticuerpos heterófilos transitorios que aglutinan células de carnero. Son convenientes las pruebas clínicas disponibles en el mercado.

Los análisis serológicos para anticuerpos contra EBV requieren cierta interpretación. La presencia de anticuerpos IgM contra el antígeno de la cápside viral indica una infección activa. Los anticuerpos IgG contra el antígeno de la cápside viral constituyen un marcador de infección previa e indican inmunidad. Los anticuerpos contra antígeno iniciales por lo general son signo de una infección viral activa, aunque tales anticuerpos suelen detectarse en pacientes con linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo. Los anticuerpos contra antígenos de EBNA revelan una infección previa por EBV, no obstante, la detección de un aumento de anticuerpos anti-EBNA indicaría infección primaria. No todas las personas presentan anticuerpos contra EBNA.

Epidemiología

El EBV es frecuente en todos los lugares del mundo y más de 90% de los adultos es seropositivo. Se transmite principalmente por el contacto con secreciones bucofaríngeas. En países en desarrollo, las infecciones se presentan a una temprana edad; más de 90% de los niños está infectado a los seis años de edad. Estas infecciones en las primeras etapas de la infancia por lo general ocurren sin que haya ninguna enfermedad reconocible. Las infecciones no manifiestas producen una inmunidad permanente contra la mononucleosis infecciosa. En las naciones industrializadas, más de 50% de las infecciones por EBV se retrasa hasta el final de la adolescencia y la primera etapa adulta o adulto joven. En casi 50% de los casos, la infección se manifiesta por mononucleosis infecciosa. Se estiman unos 100 000 casos de mononucleosis infecciosa cada año en Estados Unidos.

Prevención, tratamiento y control

No se dispone de ninguna vacuna contra EBV.

Aciclovir reduce la propagación de EBV a partir de la bucofaringe durante el periodo de administración del fármaco, pero no afecta el número de linfocitos B inmortalizados por EBV. Aciclovir no tiene ningún efecto sobre los síntomas de la mononucleosis y no posee utilidad alguna demostrada en el tratamiento de los linfomas relacionados con EBV en los pacientes inmunodeprimidos.

La transferencia adoptiva de linfocitos T reactivos a EBV muestra perspectivas favorables como tratamiento de la enfermedad linfoproliferativa relacionada con EBV.

HERPESVIRUS HUMANO 6

El herpesvirus humano linfótropo T 6 (HHV-6) fue reconocido por primera vez en 1986. Los primeros aislados se obtuvieron de cultivos de células mononucleares de sangre periférica proveniente de pacientes con trastornos linfoproliferativos.

Propiedades del virus

El DNA viral tiene un tamaño de casi 160 a 170 kbp y muestra una composición media de 43 a 44% (G + C). La disposición genética del genoma del HHV-6 es parecida a la del CMV humano.

Al parecer, el HHV-6 no tiene ninguna relación antigénica con los otros herpesvirus humanos conocidos, con excepción de cierta reactividad cruzada limitada con el HHV-7. Las cepas de HHV-6 se dividen en dos grupos antigénicos muy relacionados pero diferentes (designados A y B).

El virus crece bien en los linfocitos T CD4. Otros tipos de células también apoyan la replicación viral, incluidos los linfocitos B y las células de origen neuroglial, fibroblastoide y megacariocítico. Las células de la bucofaringe deben infectarse, ya que el virus está presente en la saliva. No se sabe cuáles células del organismo presentan una infección latente. El CD46 humano es el receptor celular del virus.

Epidemiología y manifestaciones clínicas

Los estudios seroepidemiológicos que han utilizado pruebas de inmunofluorescencia para anticuerpos séricos o análisis de PCR para el DNA viral en la saliva o en las células sanguíneas han demostrado que el HHV-6 tiene una amplia distribución en la población. Se estima que más de 90% de los niños mayores de un año de edad y los adultos es positivo para el virus.

Las infecciones por HHV-6 suelen presentarse en las primeras etapas de la infancia. Esta infección primaria produce un exantema súbito (roséola infantil o exantema súbito (sexta enfermedad)), la leve enfermedad infantil frecuente que se caracteriza por fiebre elevada y exantema. La variante 6B al parecer es la causa de esta entidad patológica. El virus se relaciona con convulsiones febriles en los niños.

Se piensa que el mecanismo de transmisión del HHV-6 es a través de las secreciones bucales. El hecho de que sea un microorganismo ubicuo indica que debe eliminarse hacia el ambiente desde un portador infectado.

Las infecciones persisten de por vida. La reactivación al parecer es frecuente en los pacientes con trasplante y durante el embarazo. Las consecuencias de la infección reactivada aún no se han determinado. La reactivación del HHV-6 ocurre en casi 50% de los pacientes que se someten a trasplante de células madre hematopoyéticas, y pueden detectarse mediante la técnica de PCR. Estas reactivaciones parecen poco después del trasplante y se han relacionado con retraso de la aceptación del trasplante, disfunción del SNC y mayor mortalidad.

HERPESVIRUS HUMANO 7

Un herpesvirus humano linfótropo T, designado herpesvirus humano 7 (HHV-7), se aisló por primera vez en 1990 a partir de los linfocitos T activados obtenidos de linfocitos de sangre periférica de una persona sana.

El HHV-7 es diferente desde el punto de vista inmunológico al HHV-6, aunque comparten casi 50% de homología en el DNA.

El HHV-7 al parecer es un microorganismo ubicuo y casi todas las infecciones se presentan en la infancia, pero a una edad mayor que la observada con el HHV-6. Se establecen infecciones persistentes en glándulas salivales y se puede aislar el virus de la saliva de la mayoría de las personas. En un estudio longitudinal de adultos sanos, 75% de los sujetos excretaba el virus infeccioso en la saliva una o más veces durante un periodo de observación de seis meses. De un modo similar al HHV-6, la infección primaria por HHV-7 se ha relacionado con la roséola infantil en los lactantes y niños pequeños. Aún no se ha establecido alguna relación con otra enfermedad para el HHV-7.

HERPESVIRUS HUMANO 8

Un nuevo herpesvirus, designado herpesvirus humano 8 (HHV-8), y también denominado KSHV, fue detectado por primera vez en 1994 en muestras de sarcoma de Kaposi. El KSHV es un virus linfotrópico y está relacionado de modo más esencial con el EBV y el herpesvirus saimiri que otros herpesvirus conocidos. El genoma de KSHV (alrededor de 165 kbp) contiene múltiples genes relacionados con los genes reguladores que intervienen en la proliferación celular, la apoptosis y las respuestas del hospedador (ciclina D, citocinas, receptor de quimiocina) que supuestamente contribuyen a la patogenia viral. Esta piratería molecular de genes reguladores de células es una característica notable del virus. El KSHV es la causa de los sarcomas de Kaposi, los tumores vasculares de composición celular mixta e interviene en la patogenia de los linfomas que se producen en cavidades del cuerpo y que surgen en pacientes con sida o enfermedad de Castleman multicéntrica.

El KSHV no es tan ubicuo como otros herpesvirus; casi 5% de la población general en Estados Unidos y en el norte de Europa tiene evidencia serológica de la infección por KSHV. El contacto con las secreciones bucales quizás es la vía de transmisión más frecuente. El virus también se puede transmitir por vía sexual, de forma vertical, a través de la sangre y por medio del trasplante de órganos. Asimismo, se ha detectado DNA viral en muestras de leche materna en África. Las infecciones son frecuentes en dicho continente (> 50%) y se adquieren a una edad temprana.

El DNA viral se puede detectar en muestras de pacientes mediante los análisis de PCR. El cultivo directo del virus es difícil e impráctico. Se dispone de análisis serológicos para medir anticuerpos persistentes contra KSHV, con la utilización de inmunofluorescencia indirecta, *Western blot* (inmunotransferencia) y formatos de enzimoinmunoanálisis de adsorción.

Foscarnet, famciclovir, ganciclovir y cidofovir son activos contra la replicación de KSHV. En sujetos VIH positivos que reciben antirretrovirales eficaces, hay disminución notable de la magnitud de la replicación mencionada y la frecuencia con que surgen nuevos sarcomas de Kaposi y todo ello posiblemente expresa la reconstitución de la vigilancia inmunitaria contra células infectadas por KSHV.

VIRUS B

El virus del herpes B de los monos del Viejo Mundo es muy patógeno en seres humanos. La transmisión del virus al ser humano es limitada, pero las infecciones que ocurren

conllevan una elevada tasa de mortalidad (cerca de 60%). La enfermedad por el virus del herpes B en seres humanos es una mielitis ascendente aguda con encefalomielitis.

Propiedades del virus

El virus B es un herpesvirus característico que es natural en los macacos, los monos del Viejo Mundo en Asia. El virus B es enzoótico en los monos rhesus, cinomolgo y otros macacos (del género *Macaca*). Se le ha llamado *Macacine herpesvirus* o herpesvirus simio, en vez del antiguo nombre de *Cercopithecine herpesvirus 1*. Su organización genómica es similar a la del HSV y muchos genes tienen una disposición colineal. Su genoma es 75% G + C, el más alto entre los herpesvirus. Al igual que con todos los herpesvirus, el virus B establece infecciones latentes en hospedadores infectados. El virus crece bien en cultivos de riñón de mono, riñón de conejo y células humanas con un ciclo de crecimiento breve. Los efectos citopáticos son similares a los de HSV.

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones por el virus B causan enfermedad en los monos rhesus. Es posible que se presenten lesiones vesiculares de la bucofaringe parecidas a las provocadas en el ser humano por el HSV. También surgen lesiones genitales. Muchos monos rhesus son portadores de infecciones latentes por el virus B que pueden activarse en circunstancias de estrés.

El virus es transmisible a otros monos, conejos, cobayos, ratas y ratones. Los conejos suelen presentar infecciones letales después de la inoculación del virus B.

Las infecciones por el virus B en el ser humano suelen deberse a una mordedura de mono, aunque es factible la infección por la vía respiratoria o la exposición a salpicaduras oculares. La característica notable de las infecciones por el virus B en seres humanos es la gran propensión a originar afectación neurológica. Muchos sobrevivientes quedan con alteraciones neurológicas.

Epidemiología y manifestaciones clínicas

El virus de la hepatitis B se transmite por el contacto directo con el virus o el material que lo contiene. La transmisión ocurre entre los monos del género *Macaca,* entre monos y seres humanos y raras veces entre personas. El virus puede estar presente en saliva, líquidos conjuntivales y vesiculares, regiones genitales y heces de monos. Puede ocurrir transmisión respiratoria. Otras fuentes de infección son el contacto directo con las jaulas de animales y con cultivos de células de monos infectados.

La infección en el hospedador natural pocas veces se acompaña de enfermedad evidente. Las infecciones por el virus B son muy frecuentes en colonias de monos rhesus. La seroprevalencia en animales adultos es de 70% o más. Puesto que las infecciones latentes pueden reactivarse, los animales seropositivos son reservorios para la transmisión de las infecciones por el virus B. La frecuencia de la excreción del virus B por los monos tal vez no es mayor de 3 por ciento.

Las personas que trabajan con animales y quienes manipulan macacos, incluidos investigadores médicos, veterinarios, dueños de mascotas y aquellos que laboran en zoológicos, están en peligro de adquirir la infección por virus B. Las personas en contacto muy cercano con trabajadores expuestos a los monos, también corren algún peligro.

Tratamiento y control

No se dispone de ningún tratamiento específico una vez que se manifiesta la enfermedad clínica. Sin embargo, se recomienda el tratamiento con aciclovir inmediatamente después del contagio. En Estados Unidos, en el *National B virus Resource Center* se pueden practicar técnicas, como PCR y otras de tipo serológico, a personas expuestas y a tejidos de simios. No se ha demostrado que la globulina γ constituya un tratamiento eficaz para las infecciones por el virus B humano. No se dispone de ninguna vacuna.

El riesgo de infecciones por el virus B se puede reducir mediante procedimientos adecuados en el laboratorio y en la manipulación y el manejo de macacos. Este riesgo hace que los macacos no sean mascotas apropiadas.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los herpesvirus son virus grandes con un genoma de DNA bicatenario; se conocen 100 virus diferentes de esta clase, que infectan diversas especies.
- Los miembros de la familia herpesvirus tienen propiedades biológicas muy variadas.
- Todos los herpesvirus ocasionan infecciones latentes permanentes.
- Algunos herpesvirus constituyen microorganismos patógenos importantes para las personas pues ocasionan una amplia variedad de enfermedades.
- Las entidades patológicas propias de la infección primaria y la infección reactivada por un herpesvirus particular varían de manera amplia.
- Los herpesvirus pueden causar enfermedad grave en sujetos inmunodeprimidos.
- Los virus de herpes simple tipos 1 y 2 comparten alguna homología de secuencias, afectan a gran diversidad de hospedadores, proliferan con rapidez y establecen infecciones latentes en neuronas.
- El virus de herpes simple tipo 1 por lo común ocasiona lesiones bucofaríngeas y el de tipo 2 origina sobre todo infecciones en genitales.
- Algunos antivirales son eficaces contra el virus de herpes simple.
- El virus de herpes simple tipo 1 es la causa más común de encefalitis esporádica letal.
- El virus de varicela-zóster ocasiona varicela en la infección primaria en niños y zóster (boqueras) después de reactivación en adultos.
- Se cuenta con una vacuna a base de virus de varicela vivos atenuados. Se ha aprobado una versión más potente de la vacuna para evitar el zóster en sujetos de edad avanzada.
- Los citomegalovirus son causa importante de anomalías del desarrollo y retraso mental después de infecciones congénitas.
- Las infecciones no manifiestas por citomegalovirus son frecuentes en la infancia.

- Las personas que ha recibido un órgano en trasplante están en peligro de presentar reactivación de enfermedades, en particular neumonía.
- El virus de varicela y en particular el zóster y el citomegálico proliferan lentamente en cultivo celular.
- El virus de Epstein-Barr establece infecciones latentes en linfocitos B.
- El virus de Epstein-Barr ocasiona mononucleosis infecciosa y se ha vinculado con algunos cánceres de seres humanos incluidos el linfoma de Burkitt y el carcinoma nasofaríngeo.
- El herpesvirus del sarcoma de Kaposi es la causa del sarcoma de igual nombre, que es un tumor vascularizado.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un niño de tres años de edad previamente sano presenta una enfermedad viral infantil clásica. ¿Cuál de las siguientes infecciones virales principales de la infancia suele ser asintomática?
   (A) Citomegalovirus
   (B) Virus de Epstein-Barr
   (C) Virus de la hepatitis B
   (D) Virus de varicela-zóster
   (E) Parvovirus B19
2. ¿Cuál de los siguientes es un tratamiento recomendado para la infección genital por HSV?
   (A) Aciclovir
   (B) Vacuna de virus vivo atenuado
   (C) Inmunoglobulina del herpes
   (D) Interferón α
   (E) Ribavirina
3. Casi todas las infecciones por herpesvirus son endémicas en todo el mundo. ¿Cuál de los siguientes virus muestra diferencias geográficas notables en la seroprevalencia?
   (A) Citomegalovirus
   (B) Virus de Epstein-Barr
   (C) Virus de herpes simple tipo 2
   (D) Herpesvirus de sarcoma de Kaposi
   (E) Virus de varicela-zóster
4. Una estudiante universitaria de 19 años de edad presenta fiebre, faringitis y linfadenopatía que se acompañan de linfocitosis con células atípicas y un incremento de las aglutininas de células de carnero. El diagnóstico más probable es:
   (A) Hepatitis infecciosa
   (B) Mononucleosis infecciosa
   (C) Varicela
   (D) Infección por herpes simple
   (E) Meningitis viral
5. Un frotis de Tzanck de un raspado obtenido de una vesícula en la piel demuestra células gigantes multinucleadas. ¿Con cuál de los siguientes virus se relacionan las células gigantes multinucleadas?
   (A) Varicela-zóster
   (B) Viruela mayor
   (C) Coxsackievirus
   (D) Molusco contagioso
6. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a los herpesvirus β es incorrecta?
   (A) Establecen infecciones latentes y persisten por tiempo indefinido en hospedadores infectados.
   (B) Son reactivados en los pacientes inmunodeprimidos.
   (C) Casi todas las infecciones son asintomáticas.
   (D) Pueden infectar células linfoides.
   (E) Tienen ciclos de crecimiento citolíticos breves en células cultivadas.
7. Una mujer de 28 años de edad tiene herpes genital recurrente. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las infecciones herpéticas genitales es correcta?
   (A) La reactivación del virus latente durante el embarazo no plantea ninguna amenaza para el recién nacido.
   (B) El virus no se puede transmitir cuando no hay lesiones manifiestas.
   (C) Los episodios recurrentes debidos a reactivación del virus latente tienden a ser más graves que la infección primaria.
   (D) Aquellas pueden deberse a virus del herpes simple tipo 1 o al tipo 2.
   (E) Es posible encontrar HSV latente en células dendríticas.
8. ¿Cuál de los siguientes virus produce un síndrome parecido a la mononucleosis y se excreta en la orina?
   (A) Citomegalovirus
   (B) Virus de Epstein-Barr
   (C) Herpesvirus humano 6
   (D) Virus de varicela-zóster
   (E) Virus del herpes simple tipo 2
9. Una mujer de 53 años de edad presenta fiebre y signos neurológicos focales. Las imágenes de resonancia magnética muestran una lesión en el lóbulo temporal izquierdo. ¿Cuál de las siguientes pruebas sería más apropiada para confirmar un diagnóstico de encefalitis por herpes simple en esta paciente?
   (A) Biopsia de cerebro
   (B) Frotis de Tzanck
   (C) Análisis de PCR para DNA viral en el líquido cefalorraquídeo
   (D) Prueba serológica para anticuerpo IgM viral
10. ¿Cuál de los siguientes tumores es causado por un virus diferente al virus de Epstein-Barr?
    (A) Linfomas postrasplante
    (B) Enfermedad de Hodgkin
    (C) Sarcoma de Kaposi
    (D) Linfomas no-Hodgkin del sistema nervioso central relacionados con sida
    (E) Linfoma de Burkitt
11. Un brote epidémico de un exantema denominado "herpes de la colchoneta" ocurrió entre estudiantes de secundaria que compitieron en un torneo de lucha. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más exacta?
    (A) El exantema no es contagioso entre los luchadores.
    (B) El microorganismo causante es el virus del herpes simple tipo 1.
    (C) El microorganismo causante es varicela-zóster.
    (D) Las lesiones suelen persistir durante un mes o más.
    (E) Se debe vacunar a los estudiantes antes de que participen en torneos de lucha libre.
12. ¿En cuál de los siguientes grupos se recomienda la vacuna contra herpes zóster?
    (A) Adolescentes sanos
    (B) Personas mayores de 60 años de edad
    (C) Embarazadas
    (D) Quienes nunca han tenido varicela
13. La infección congénita más frecuente es causada por:
    (A) Virus de varicela-zóster
    (B) Virus de herpes simple tipo 2
    (C) Herpesvirus humano 8 (herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi)

(D) Citomegalovirus
(E) Parvovirus

14. ¿Cuál de los siguientes grupos tiene más riesgo de contraer herpes zóster?
(A) Personas de edad avanzada
(B) Pacientes con dermatitis atópica
(C) Embarazadas
(D) Personas que se han vacunado con vacuna contra la varicela
(E) Lactantes con infecciones congénitas

15. De las siguientes afirmaciones ¿Cuál es la *mejor* explicación de la acción selectiva del aciclovir (acicloguanosina) en células infectadas por el virus de herpes simple (HSV)?
(A) El aciclovir se une de manera específica a receptores virales sólo en la superficie de la célula infectada por HSV.
(B) El aciclovir es fosforilado por una fosfocinasa codificada por el virus solamente dentro de las células infectadas por HSV.
(C) El aciclovir inhibe de modo selectivo la RNA polimerasa en el virión de HSV.
(D) El aciclovir bloquea de manera específica la proteína de la matriz de HSV y con ello impide que se liberen las partículas hijas de HSV.

16. Las afirmaciones siguientes respecto del periodo de latencia del herpesvirus son correctas, *excepto:*
(A) Los estímulos exógenos reactivan la infección latente e inducen la enfermedad sintomática.
(B) Durante la latencia, no se demuestra la presencia de anticuerpos contra el virus en el suero de personas infectadas.
(C) La reactivación de herpesvirus latentes es más frecuente en pacientes con depresión de la inmunidad mediada por células comparados con sujetos con buena función inmunitaria.
(D) Es posible identificar virus en las células con infección latente, al cultivarlas junto con células susceptibles.

17. Se ha demostrado la eficacia de vacunas para evitar la enfermedad por herpesvirus en algunas de las situaciones siguientes:
(A) Infección primaria por el virus de herpes simple tipo 1
(B) Reactivación de la infección por virus de herpes simple tipo 2
(C) Reactivación de varicela-zóster
(D) Infección primaria por virus citomegálico
(E) Reactivación del virus de Epstein-Barr

18. El virus del herpes simple y el citomegalovirus comparten muchos rasgos. De las características siguientes, ¿cuál es la que comparten con *menor frecuencia*?
(A) Es causa importante de morbilidad y mortalidad en recién nacidos
(B) Anomalías congénitas causadas por el paso trasplacentario
(C) Causa importante de enfermedad grave en personas inmunodeprimidas
(D) Infección leve o no manifiesta

19. El virus de herpes simple tipo 1 (HSV-1) es diferente de varias formas del virus de herpes simple tipo 2 (HSV-2). De las afirmaciones siguientes: ¿cuál es la *menos* válida?
(A) El HSV-1 origina lesiones por arriba del ombligo con mayor frecuencia que las que produce HSV-2.
(B) La infección por HSV-1 no se relaciona con tumor de ningún tipo en los seres humanos.
(C) El antisuero contra HSV-1 neutraliza HSV-1 con mayor eficacia que HSV-2.
(D) En tanto que HSV-1 genera recurrencias frecuentes, son raras estas últimas con la infección por HSV-2.

20. Las afirmaciones siguientes respecto del virus de Epstein-Barr son correctas, *excepto:*
(A) Muchas infecciones son poco intensas o no manifiestas.
(B) Cuanto más tempranamente un niño adquiera la infección primaria, habrá mayor posibilidad de que se manifieste el cuadro típico de mononucleosis infecciosa.
(C) Los linfocitos infectados de modo latente persisten por lo regular después de un episodio agudo de infección.
(D) La infección genera inmunidad contra segundos episodios de mononucleosis infectante.

Respuestas

1. D	6. E	11. B	16. B
2. A	7. D	12. B	17. C
3. D	8. A	13. D	18. B
4. B	9. C	14. A	19. D
5. A	10. C	15. B	20. B

BIBLIOGRAFÍA

Baines JD: Herpes simplex virus capsid assembly and DNA packaging: a present and future antiviral drug target. *Trends Microbiol* 2011;19:606.

Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, *et al.*: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.

Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagnost* 2008;10:279.

Hassan J, Connell J: Translational mini-review series on infectious disease: Congenital cytomegalovirus infection: 50 years on. *Clin Exp Immunol* 2007;149:205.

Huff JL, Barry PA: B-virus (*Cercopithecine herpesvirus* 1) infection in humans and macaques: Potential for zoonotic disease. *Emerg Infect Dis* 2003;9:246.

Jackson SE, Mason GM, Wills MR: Human cytomegalovirus immunity and immune evasion. *Virus Res* 2011;157:151.

Kimberlin DW, Whitley RJ: Human herpesvirus-6: Neurologic implications of a newly-described viral pathogen. *J Neurovirol* 1998;4:474.

Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief): Herpesviridae. En *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Oxman MN: Zoster vaccine: Current status and future prospects. *Clin Infect Dis* 2010;51:197.

Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Prevention of herpes zoster. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57(RR-5):1.

Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Prevention of varicella. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007;56(RR-4):1.

Weinberg A, Cannon M, Pereira L (guest editors): Congenital CMV supplement, 2008 Congenital Cytomegalovirus (CMV) Conference. *J Clin Virol* 2009;46(Suppl 4). [Entire issue.]

CAPÍTULO

34

Poxvirus

Los poxvirus constituyen el complejo de virus más grande y más heterogéneo que infecta a seres humanos. La familia incluye un gran grupo de agentes que muestran semejanza morfológica y comparten un antígeno núcleo proteínico común. La mayoría de las infecciones causadas por virus de esta familia les caracteriza una erupción, aunque algunas lesiones inducidas por unos cuantos miembros de la misma son extraordinariamente proliferativas. El grupo incluye el virus de la viruela, causante de dicha enfermedad, que ha afectado al ser humano desde que se tienen registros históricos.

A pesar de que después de la campaña intensiva coordinada por la Organización Mundial de la Salud se declaró que la viruela había sido erradicada (en 1980), ha surgido la preocupación de que el virus pueda ser utilizado de nuevo, como un arma biológica. La profesión médica siempre debe conocer en detalle lo referente al virus de la vaccinia o enfermedad vacuna (utilizado en la vacuna antivariolosa) y sus complicaciones posibles en los seres humanos. También, se requiere saber todo lo referente a enfermedades por otros poxvirus que se asemejan a veces a la viruela y que es necesario diferenciar por medio de estudios de laboratorio. Por último, el virus de la enfermedad vacuna se ha estudiado en forma intensiva para servir como vector para la introducción de genes de inmunización activa, en la forma de vacunas a base de virus vivos contra diversas virosis de humanos y animales domésticos.

PROPIEDADES DE LOS POXVIRUS

En el cuadro 34-1 se señalan las propiedades importantes de los poxvirus.

Estructura y composición

Los poxvirus tienen tamaño suficiente para ser identificados por el microscopio corriente como partículas con rasgos poco característicos. En el microscopio electrónico, el aspecto es el de partículas rectangulares o elipsoides que miden 300 a 400 × 230 nm, su estructura es compleja y no cumple con las normas de simetría icosaédrica o helicoidal. La superficie externa de las partículas contiene bordes. Los virus cuentan con una membrana lipoproteínica externa, o cubierta, que rodea el centro o núcleo, y dos estructuras de función desconocida llamadas cuerpos laterales (figura 34-1).

El centro o núcleo contiene el gran genoma viral con DNA lineal bicatenario (130 a 375 kbp). Se ha identificado la secuencia genómica completa de algunos poxvirus, como el de la enfermedad vacuna y la viruela. El genoma de la primera contiene 185 marcos de lectura abierta. El DNA contiene repeticiones terminales invertidas de longitud variable y las cadenas están conectadas en los extremos por asas terminales en forma de horquilla. Las repeticiones terminales invertidas pueden incluir regiones codificadoras, de manera que algunos genes están presentes en ambos extremos del genoma. El DNA tiene abundantes bases de adenina y timina.

La composición química de un poxvirus se asemeja a la de una bacteria. El virus de la enfermedad vacuna está compuesto predominantemente de proteínas (90%), lípidos (5%) y DNA (3%). En partículas virales se han detectado más de 100 polipéptidos estructurales. Algunas de las proteínas están glucosiladas o fosforiladas. Los lípidos son colesterol y fosfolípidos.

El virion contiene muy diversas enzimas que incluyen un sistema de transcripción que sintetiza, efectúa la poliadenilación, interviene en la adquisición de una cubierta, y realiza la metilación del mRNA del virus.

Clasificación

Los poxvirus se dividen en dos subfamilias, según infecten hospedadores vertebrados o insectos. Los poxvirus de vertebrados incluyen nueve géneros y los miembros de un género particular muestran similitudes en su morfología y en su predilección por hospedadores y también algunos vínculos antigénicos o semejanzas.

Muchos de los poxvirus que causan enfermedades en seres humanos pertenecen a los géneros *Orthopoxvirus* y *Parapoxvirus*; también otros más se clasifican dentro de los géneros *Yatapoxvirus* y *Molluscipoxvirus* (cuadro 34-2).

Los ortopoxvirus tienen predilección por muy diversos hospedadores y afectan a algunos vertebrados; comprenden los virus de ectromelia (viruela murina), y los que causan las viruelas de los camélidos, ganado vacuno, simios, enfermedad vacuna y viruela. Las últimas cuatro afectan a humanos. El virus de enfermedad vacuna (vaccinia) difiere sólo en pequeños aspectos morfológicos de los virus de varicela y viruela vacuna. En lo que se refiere a estructura y replicación, constituye el prototipo de los poxvirus. El virus de la viruela símica infecta roedores, monos y seres humanos y el cuadro clínico que ocasiona puede asemejarse al de la viruela.

Algunos poxvirus tienen predilección por pocos hospedadores e infectan solamente conejos (fibroma y mixoma), o aves. Otros infectan principalmente ovejas y cabras (viruela ovina o caprina) o ganado vacuno (enfermedad paravacuna o nódulo de los ordeñadores).

Los parapoxvirus tienen características morfológicas peculiares. En comparación con los ortopoxvirus, los virus

apter 34_Carroll_4R.indd 483 15/04/16

CUADRO 34-1 Propiedades importantes de los poxvirus

Virión: Estructura compleja de forma oval o rectangular, con 300 a 400 nm de longitud × 230 nm de diámetro; en su superficie externa hay bordes; contiene cuerpos centrales y laterales
Composición: DNA (3%), proteínas (90%), lípidos (5%)
Genoma: DNA bicatenario, lineal; tamaño: 130 a 375 kbp; posee asas terminales; su contenido de G + C es pequeño (30 a 40%) excepto *Parapoxvirus* (63%)
Proteínas: Los viriones contienen más de 100 polipéptidos; en su zona central o núcleo tienen innumerables enzimas, incluidas las que participan en el sistema de transcripción
Envoltura: El ensamblado del virión entraña la formación de múltiples membranas
Replicación: Fábricas citoplásmicas
Características sobresalientes: Constituyen algunos de los virus de mayor tamaño y complejidad; son muy resistentes a la inactivación Las proteínas codificadas por virus permiten evadir el sistema de defensa inmunitaria del hospedador La viruela fue la primera enfermedad viral que pudo ser erradicada a nivel mundial

comentados son un poco más pequeños (partículas de 260 × 160 nm) y en su superficie presentan una disposición "cruzada" (figura 34-2). Su genoma es menor (aproximadamente 135 kbp) y su contenido de guanina y citosina es mayor (63%) que el de los ortopoxvirus (170 a 250 kbp; G + C, 30 a 40 por ciento).

Todos los poxvirus que afectan vertebrados comparten un antígeno núcleo proteínico común en el núcleo interno. Surge de actividad serológica cruzada en virus dentro de un género particular, pero la reactividad es muy pequeña de un género a otro. En consecuencia, la vacunación con el virus de enfermedad vacuna (vaccinia) no protege de enfermedades inducidas por otros géneros de poxvirus.

Replicación del poxvirus

El ciclo de replicación del virus en la enfermedad vacuna se resume en la figura 34-3. Los poxvirus tienen la particularidad, entre los DNA virus, de que el ciclo completo de multiplicación ocurre en el citoplasma de las células infectadas. Sin embargo, es posible que participen factores nucleares en la transcripción y el ensamblado del virión. Los poxvirus se diferencian todavía más de los otros virus que afectan animales, en que para la fase de pérdida de la cubierta se necesita una proteína recién sintetizada codificada por el virus.

A. Fijación, penetración y pérdida de la envoltura

Las partículas virales establecen contacto con la superficie celular y se fusionan con la membrana de las células. Algunas partículas pueden estar dentro de las vacuolas. Los centros virales son liberados en el interior del citoplasma. Entre las enzimas del interior de la partícula del poxvirus, se encuentra una RNA polimerasa viral que transcribe la mitad, aproximadamente, del genoma viral en el mRNA inicial. Estos mRNA son transcritos en el interior del centro viral para ser liberados en el citoplasma de las células. Dentro del centro viral se encuentran las enzimas necesarias y por ello los inhibidores de la síntesis proteínica no afectan la transcripción en su fase inicial. La proteína que se ocupa de la pérdida de la envoltura que actúa en el centro viral es uno de los más de 50 polipéptidos sintetizados poco después de comenzar la infección. La segunda etapa en la pérdida de la envoltura libera del centro DNA viral; es necesaria la síntesis de RNA y de proteínas. Precisamente en esa fase se impide la síntesis de las macromoléculas de las células del hospedador.

Los poxvirus inactivados por calor pueden ser reactivados por acción de poxvirus viables o partículas del mismo tipo, inactivadas por las mostazas nitrogenadas (que inactivan el DNA); este proceso se conoce como **reactivación no genética**

A



B

FIGURA 34-1 Micrografías electrónicas de viriones de variolovacuna (*Orthopoxvirus*). **A:** Partícula con tinción negativa en que se identifican bordes o elementos tubulares que cubren la superficie (228 000×). (Con autorización de Dales S: The uptake and development of vaccinia virus in strain L cells followed with labeled viral deoxyribonucleic acid. *J Cell Biol* 1963;18:51.) **B:** Corte fino del virión de la variolovacuna en que se advierte un centro bicóncavo, dos corpúsculos laterales y una membrana exterior (220 000×). (Con autorización de Pogo BGT, Dale S: Two deoxyribonuclease activities within purified vaccinia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969;63:820.)

CUADRO 34-2 Poxvirus que causan enfermedad en humanos

Género	Virus	Hospedador primario	Enfermedad
Orthopoxvirus	Varicela (mayor y menor)	Humanos	Viruela (eliminada en la actualidad)
	Enfermedad de variolo vacuna (vaccinia)	Humanos	Lesión localizada; se utiliza para vacunación antivariolosa
	Viruela del búfalo	Búfalo de río	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Viruela símica	Roedores, monos	Son raras las infecciones de humanos; enfermedad generalizada
	Viruela vacuna	Vacas	Las infecciones en humanos son raras; lesión ulcerosa localizada
Parapoxvirus	Ectima contagioso	Ovejas	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Paravacuna	Vacas	
	Estomatitis papulosa bovina	Vacas	
Molluscipoxvirus	Molusco contagioso	Humanos	Muchos nódulos cutáneos benignos
Yatapoxvirus	Tanapox	Monos	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Yabapox	Monos	Son muy raras y accidentales las infecciones de humanos; tumores cutáneos localizados

y depende de la acción de la proteína encargada de la pérdida de la envoltura. Los virus termoinactivados no pueden por sí solos iniciar la segunda etapa de la pérdida de la envoltura, dada la termolabilidad de la RNA polimerasa. Al parecer, el virus inactivado por calor aporta la estructura básica (templado) y el segundo virus suministra las enzimas necesarias para la transcripción. Cualquier poxivirus que afecte vertebrados se reactiva por acción de otras partículas del mismo tipo.

B. Replicación del DNA viral y síntesis de proteínas del virus

Entre las primeras proteínas sintetizadas después de infección por virus de vaccinia están las enzimas que intervienen en la replicación de DNA, que incluyen una polimerasa de dicho ácido nucleico y la timidina cinasa. La replicación del DNA viral se realiza en el citoplasma y al parecer depende de las enzimas codificadas propias del virus. La replicación de DNA del virus comienza poco después de que se libera dicho ácido nucleico en la segunda etapa de la pérdida de la envoltura. Acaece 2 a 6 h después de la infección en áreas definidas del citoplasma, que adquieren el aspecto de "fábricas" o cuerpos de inclusión en las micrografías electrónicas. El número de cuerpos de inclusión por célula es proporcional a la multiplicidad de la infección y ello sugiere que cada partícula infectante puede inducir la aparición de una "fábrica". En el interior de las células infectadas por poxvirus se produce recombinación homóloga en cantidades importantes; tal situación ha sido aprovechada en experimentos para la elaboración y para la expresión gráfica (cartografía) de mutaciones.

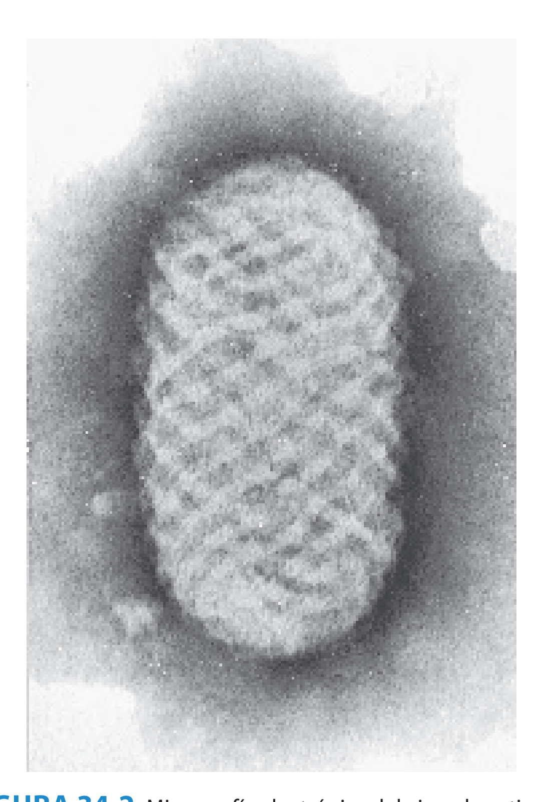


FIGURA 34-2 Micrografía electrónica del virus de ectima contagioso (*Parapoxvirus*). Note el tipo distintivo de líneas entrecruzadas de la superficie del virión (× 200 000). (Por cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Las características de la expresión de genes virales cambian extraordinariamente cuando comienza la replicación del DNA viral. Se inhibe la síntesis de muchas de las proteínas iniciales. Se conoce una pequeña clase intermedia de genes cuya expresión antecede cronológicamente a la de los genes de la clase tardía. El mRNA tardío del virus es traducido en grandes cantidades de proteínas estructurales y cantidades pequeñas de otras proteínas y enzimas del virus.

C. Maduración

El ensamblado de la partícula viral a partir de sus componentes elaborados constituye un proceso complejo. Algunas de las partículas son liberadas de la célula por el fenómeno de eclosión, pero la mayor parte de los poxvirus permanecen dentro de la célula hospedadora. En cada célula se producen unas 10 000 partículas virales. No se ha dilucidado la forma en que múltiples componentes del sistema de transcripción son incorporados en el centro del virus en fase de ensamblado.

D. Genes modificadores del hospedador codificados por virus

Un polipéptido codificado por uno de los genes tempranos del virus de vaccinia guarda relación íntima con el factor de crecimiento epidérmico y con el factor α transformante de crecimiento. La producción de factores de crecimiento similares al factor de crecimiento epidérmico por parte de células infectadas

apter 34_Carroll_4R.indd 485 15/04/16

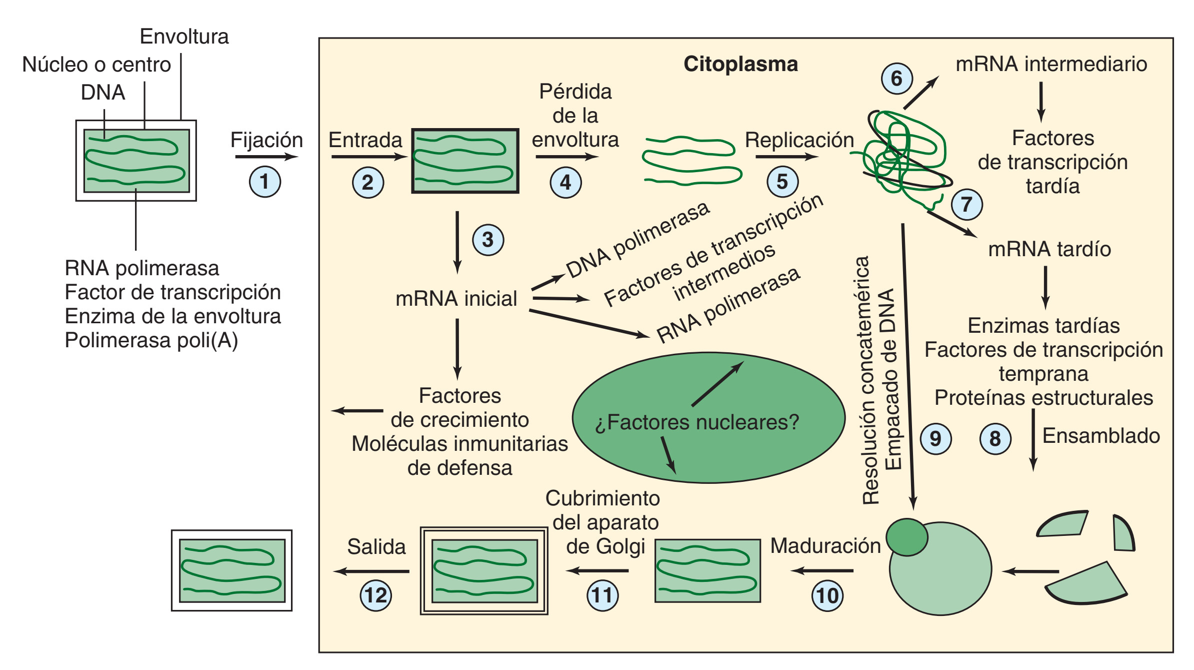


FIGURA 34-3 Esquema del ciclo de replicación del virus de variolovacuna. La replicación de este gran DNA virus se produce en el citoplasma celular. 1) Las partículas virales se adosan a las células. 2) Se fusionan con la membrana celular y liberan núcleos "virales" en el citoplasma. 3) Los núcleos generan mRNA temprano y para ello se valen de enzimas virales y factores de transcripción que están dentro de tales núcleos; dichos mRNA son "traducidos" para generar innumerables proteínas virales, que poseen capacidad de replicación. 4) Los núcleos pierden su cubierta. 5) El DNA viral es replicado. 6 y 7) Transcripción de genes intermedios y tardíos; entre esos productos están proteínas estructurales. 8-10) El ensamblado de los viriones infectantes se produce en la estructura de la membrana. 11) La partícula obtiene "cubiertas" en el aparato de Golgi y la membrana plasmática, lo cual lleva a la siguiente fase de (12), la liberación de los viriones hijos con cubierta. (Con autorización de Moss B: Poxviridae: The viruses and their replication. En Fields BN, Knipe OM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

por virus podría explicar la aparición de enfermedades proliferativas, asociadas con miembros de la familia de poxvirus como el fibroma de Shope (conejos), el tumor de Yaba (monos) y los virus del molusco contagioso (seres humanos).

Algunos genes de poxvirus se asemejan a los de mamíferos en lo tocante a proteínas que podrían inhibir los mecanismos de defensa del hospedador. Entre los ejemplos están los receptores del factor de necrosis tumoral, interferón γ, IL-1 y proteína que se une a complemento. Estos modificadores de defensa del hospedador codificados por poxvirus posiblemente se oponen a los sistemas de complemento y redes de citosina que son importantes en la respuesta inmunitaria del hospedador a la infección por virus, y ello permite intensificar la replicación de estas partículas y posiblemente facilitar su transmisión.

INFECCIONES POR POXVIRUS EN SERES HUMANOS: ENFERMEDAD VACUNA VACCINIA Y VARICELA

Control y erradicación de la viruela

Desde hace siglos se ha luchado contra la viruela por medio de la infección deliberada con formas benignas de la enfermedad; el proceso, denominado variolación, fue peligroso pero disminuyó los efectos desastrosos de las grandes epidemias, de modo que aminoró el índice de letalidad de 25 a 1%. En 1798, Edward Jenner introdujo la vacunación con virus vivos de viruela vacuna.

En 1967, la Organización Mundial de la Salud inició una campaña mundial para erradicar la viruela. Los signos epidemiológicos de la enfermedad (que serán descritos adelante), permitieron la erradicación total. Para esa fecha, en 33 países había viruela endémica y cada año surgían 10 a 15 millones de enfermos. El último caso de viruela en Asia se produjo en Bangladesh en 1975 y la última víctima natural se diagnosticó en Somalia en 1977. Se declaró oficialmente la eliminación de la viruela en 1980. Se conocen algunas razones de este resultado sobresaliente: existe un solo serotipo del virus; casi todas las infecciones se manifiestan clínicamente; es fácil preparar la vacuna que es estable e inocua; la vacuna puede ser aplicada con sencillez por parte del personal de campo, y no se necesitó la vacunación masiva de la población mundial. Se identificaron los casos de viruela y se vacunó a los contactos del paciente y a los que estaban en zonas inmediatas.

A pesar de que no hubo pruebas de transmisión de la viruela en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud coordinó la investigación de 173 posibles casos de viruela entre 1979 y 1984. Todos eran enfermedades distintas de la viruela, más a menudo varicela y otros trastornos que originan una erupción. Incluso en tal situación, cualquier caso sospechoso de viruela se transformaba en una emergencia sanitaria y debía ser investigado a brevísimo plazo por medio de evaluación clínica, obtención de muestras para estudio de laboratorio y diagnóstico, además del aislamieto del contacto.

El hecho de contar con reservas virulentas del virus de viruela en laboratorios es un hecho preocupante ante el peligro

de infecciones en esos centros y la propagación a la comunidad. Supuestamente en todos los laboratorios se destruyeron las reservas del virus de varicela, excepto en dos centros que colaboraban con la Organización Mundial de la Salud (uno en Atlanta y el otro en Moscú), dedicados al diagnóstico y la investigación de poxvirus vinculados con la varicela. Sin embargo, en el decenio de 1990, se supo que la ex Unión Soviética había utilizado virus de la viruela en su programa bélico y es posible que dicho programa también se haya transferido a otros países. El virus de la viruela se considera una amenaza biológica potencial peligrosa y es teóricamente posible que virus congelados en suelo de tundras reinfecten poblaciones humanas. Ante la erradicación mundial del virus de varicela y la interrupción ulterior de los programas de vacunación, la población humana a nivel mundial tiene una inmunidad muy débil o inexistente contra la viruela y de este modo es muy susceptible a la infección con el virus de tal enfermedad.

Los científicos investigadores pueden obtener partes del genoma del virus de varicela si las solicitan a los centros de colaboración, pero no el genoma completo. La distribución, la síntesis y el manejo del DNA del virus de varicela son regidas por recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud.

Comparación de los virus de vaccinia y varicela

El virus de vaccinia o la enfermedad vacuna, el agente utilizado para la vacunación antivariolosa, es una especie particular de *Orthopoxvirus*. Los mapas de endonucleasa restrictiva del genoma del virus son totalmente diferentes de las características del virus de la enfermedad vacuna, que según se pensaba, era su antecesor. En algún momento, después de que Jenner utilizó originalmente el término virus de "enfermedad vacuna", el virus terminó por ser llamado "de vaccinia". El virus en cuestión puede ser producto de recombinación genética, la aparición de una nueva especie derivada de los virus de vacuna o varicela por pasos seriados, o ser el descendiente de un género viral desaparecido.

La variola afecta pocos hospedadores (solamente humanos y monos), en tanto que la vaccinia puede afectar hospedadores de muy diversa índole que incluye a conejos y ratones. Algunas cepas del virus originan una enfermedad grave en conejos de laboratorio, al grado que se le ha llamado viruela de conejos. El virus vaccinia también infecta ganado vacuno y búfalos de río y la enfermedad en estos últimos han persistido en India (viruela de búfalos). Los virus de vaccinia y varicela (variola) proliferan en la membrana corioalantoidea de los embriones de pollo de 10 a 12 días, pero esta última origina pústulas más chicas. Ambos proliferan en algunas líneas celulares de pollo y primates.

Las secuencias de nucleótidos de los virus de varicela (186 kb) y de vaccinia (192 kb) son semejantes, y las diferencias más notables se advierten en las regiones terminales de los genomas. De las 187 proteínas supuestas, hay enorme similitud en la secuencia de 150 de ellas, entre uno y otro virus; las 37 restantes fueron diferentes o tuvieron especificidad para la varicela y pudieran constituir posibles determinantes de virulencia. Las secuencias no permiten conocer el origen del virus de la varicela ni explicar su especificidad estricta en cuanto al hospedador humano o su virulencia particular.

Patogenia y aspectos patológicos de la viruela

La viruela ha sido una enfermedad ya erradicada, pero la patogenia del trastorno (descrita anteriormente) puede orientar en el caso de infecciones de otros poxvirus. La patogenia de la viruela murina se ilustra en la figura 30-3.

El punto de penetración del virus de varicela son las mucosas de las zonas superiores de las vías respiratorias. Una vez que penetra el virus, según expertos, acaecen los pasos siguientes: 1) multiplicación primaria en el tejido linfoide que recibe linfa del sitio de penetración; 2) viremia transitoria e infección de células reticuloendoteliales de todo el cuerpo; 3) una fase secundaria de multiplicación de tales células que origina; 4) una viremia secundaria más intensa, y 5) aparición de la enfermedad clínica.

En la fase anterior a la erupción, la enfermedad casi no es infectante. Entre el sexto y el noveno día, las lesiones de la boca tienden a ulcerarse y expulsar virus. De este modo, en la etapa inicial los virus infectantes provienen de lesiones en la boca y zona superior de vías respiratorias. Más tarde, se rompen las pústulas y de ellas salen virus al entorno de la persona con viruela.

El análisis histopatológico de la piel indica proliferación de la capa de células espinosas y estas últimas en proliferación contienen muchas inclusiones citoplásmicas. Se advierte infiltración a base de mononucleares, en particular alrededor de los vasos del corión. Los queratinocitos muestran turgencia, por la distensión de su citoplasma y en ellos se observa la "degeneración" globosa, con agrandamiento de vacuolas citoplásmicas. Se agrandan las vacuolas en el citoplasma. Se disgrega la membrana celular y coalesce con células vecinas afectadas de manera similar, y de ello surgen vesículas. Estas últimas se agrandan, para después llenarse de leucocitos y restos celulares. El cuadro anterior puede abarcar todas las capas de la piel y se observa necrosis real de la dermis. Por todo lo comentado quedan cicatrices después de la infección por varicela. En el caso de la enfermedad vacuna se observa un cuadro histopatológico similar, aunque el virus patógeno suele originar lesiones pustulosas localizadas sólo en el sitio de inoculación.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de la viruela era de 10 a 14 días y comenzaba en forma repentina. Antes de que apareciera el exantema, la persona mostraba fiebre y malestar general durante uno o cinco días, las lesiones iniciaban como máculas para después surgir pápulas, vesículas y finalmente pústulas. Estas últimas formaban costras que se desprendían después de unas dos semanas y quedaban cicatrices rosas que desaparecían lentamente. En cada área afectada, generalmente las lesiones estaban en la misma fase de evolución (a diferencia de la varicela).

En la "Tarjeta de identificación de la viruela" preparada por la Organización Mundial de la Salud se observa el exantema típico (figura 34-4). Las lesiones abundan más bien en la cara y en menor grado en el tronco. En casos graves, el exantema es hemorrágico. La cifra de letalidad varió de 5 a 40%. En la variante poco intensa y más benigna o en personas vacunadas, el índice de mortalidad es menor de 1 por ciento.

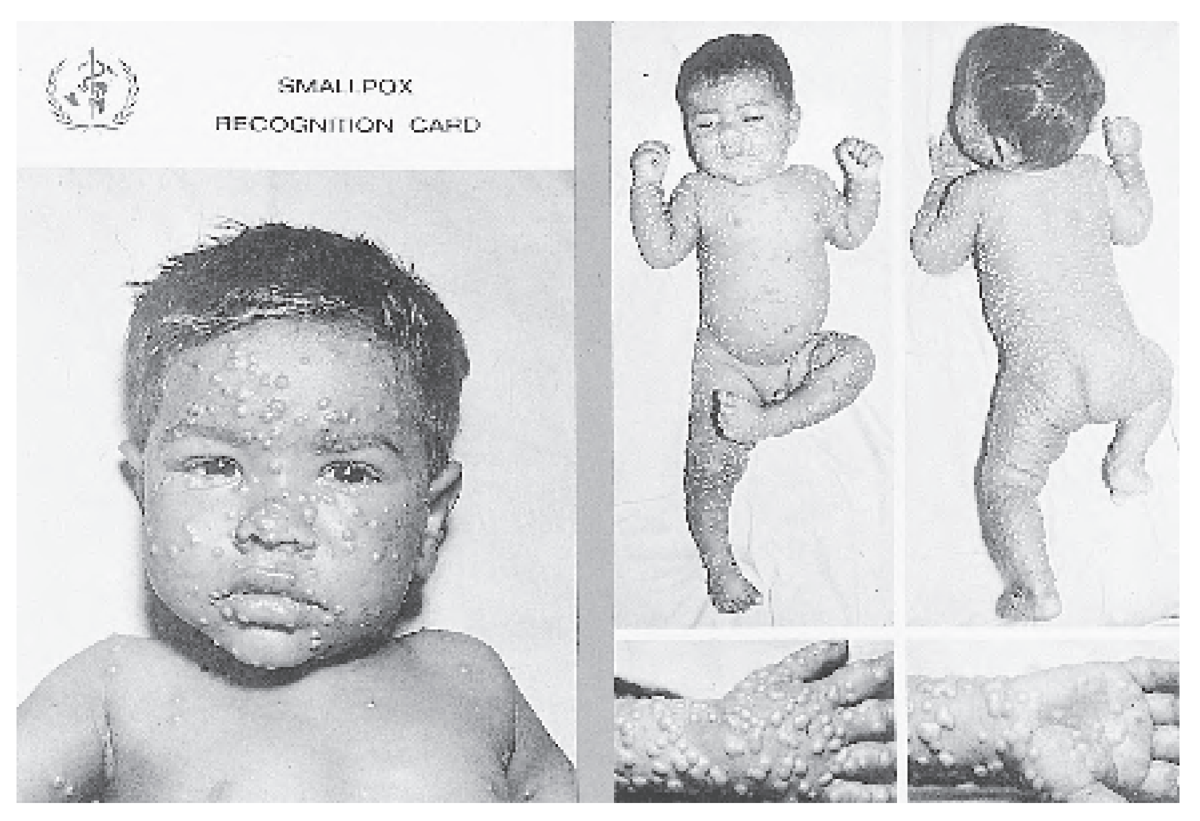


FIGURA 34-4 Erupción variolosa. La "Tarjeta de identificación de viruela" de la Organización Mundial de la Salud ilustra la distribución y naturaleza de la típica erupción de la viruela en un niño no vacunado. (Reproducida con autorización la OMS, de Fenner F *et al*.: Smallpox and its eradication. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1988.)

Inmunidad

Los virus del género *Orthopoxvirus* tienen una semejanza antigénica tan grande que es imposible diferenciarlos por medios serológicos. La infección con uno induce una respuesta inmunitaria que reacciona con todos los demás miembros del grupo.

El ataque de varicela brinda protección completa contra una nueva infección. La aplicación de la vacuna a base del virus de vaccinia ha inducido inmunidad contra el virus de varicela por cinco años, como mínimo, y a veces por más tiempo. Los anticuerpos solos no bastan para lograr la recuperación de una infección primaria por poxvirus. En el humano hospedador aparecen anticuerpos neutralizantes unos cuantos días después de comenzar el cuadro de varicela, pero no impiden la evolución de las lesiones y la persona puede fallecer en la etapa pustulosa y tener elevados niveles de anticuerpos. Es probable que la inmunidad mediada por células sea más importante que la presencia de anticuerpos circulantes. Las personas con hipogammaglobulinemia suelen reaccionar de manera normal a la vacunación y terminan por poseer inmunidad, a pesar de la ausencia manifiesta de anticuerpos. Los individuos que muestran deficiencia en sus respuestas inmunitarias celular y humoral (anticuerpos) terminan por mostrar una enfermedad progresiva que culmina en la muerte, después de la vacunación.

Otro mecanismo inmunitario posible es la síntesis de interferón (capítulo 30). Los animales radiados sin anticuerpos detectables ni hipersensibilidad tardía se recuperaron de la infección por virus de vaccinia con la misma rapidez que los animales testigos no tratados.

Diagnóstico de laboratorio

Se cuenta con algunos métodos para confirmar el diagnóstico de viruela. Es posible que en la actualidad la enfermedad esté totalmente erradicada, pero es importante identificar cualquier caso que se le asemeje. Los estudios dependen de la identificación del DNA viral o del antígeno, del material de la lesión, del estudio microscópico directo del material obtenido de lesiones de la piel, la identificación del virus en el paciente y de menor importancia, la demostración de anticuerpos en la sangre.

A. Aislamiento e identificación de los virus

Las lesiones de la piel son el material más indicado para detectar y aislar los virus. Los poxvirus son estables y permanecerán viables durante semanas en muestras incluso no refrigeradas.

Se recurre al estudio directo del material clínico con microscopio electrónico para la identificación rápida de las partículas virales (en 1 h aproximadamente), y de este modo se puede diferenciar de manera fácil la infección por poxvirus de otra causada por el virus de varicela (causada por un virus herpético). Es imposible diferenciar un ortopoxvirus de otro por medio de la microscopia electrónica, porque su tamaño y su morfología son similares. Sin embargo, es fácil diferenciarlos de los tanapoxvirus y de los parapoxvirus.

Se cuenta con las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), específica para varios poxvirus, y se utiliza con fines de detección e identificación.

El antígeno viral se detecta por inmunohistoquímica en los tejidos y del material reunido de lesiones cutáneas. Muchos

antígenos muestran reactividad cruzada e identifican a los ortopoxvirus en forma grupal. El empleo de PCR o la escisión del DNA viral por enzimas de restricción o el análisis de polipéptidos en células infectadas en poxvirus demuestran que los virus de varicela, vaccinia, viruela símica y vacuna poseen características propias.

Los cultivos celulares pueden utilizarse para aislamiento de virus, aunque el cultivo de virus de la viruela sólo se intenta en instalaciones de bioseguridad de nivel 4. Los ortopoxvirus proliferan satisfactoriamente en células cultivadas; los parapoxvirus y los tanapoxvirus tienen una proliferación menos adecuada y es imposible identificar en cultivo el virus del molusco contagioso.

El aislamiento del virus se realiza por inoculación del líquido vesicular en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo. La prueba permite diferenciar casos de viruela de los de vaccinia generalizada, dado que las lesiones producidas por dichos virus en la membrana muestran diferencias extraordinarias. En cuestión de dos a tres días, las pústulas de vaccinia son grandes y tienen centros necróticos, en tanto en las de varicela son mucho menores. Las viruelas vacuna y símica originan lesiones hemorrágicas características. Los parapoxvirus, el virus de molusco contagioso y el tanapoxvirus no proliferan en la membrana.

B. Estudios serológicos

Es posible utilizar biocuantificaciones de anticuerpos para confirmar el diagnóstico de infección por poxvirus. Estos últimos aparecen después de la primera semana de infección y pueden ser detectados por métodos como inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*), pruebas de neutralización, enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*), radioinmunoanálisis (RIA, *radioimmunoassay*) o técnicas de inmunofluorescencia. Con los métodos anteriores no se podrá diferenciar un ortopoxvirus de otro.

Tratamiento

El tratamiento de la viruela es primariamente de apoyo. La inmunoglobulina de variolovacuna no ha mostrado un beneficio de sobrevida en la enfermedad confirmada.

La metisazona es un quimioterapéutico contra coxvirus históricamente valorado. Tiene eficacia profiláctica pero no es útil para tratar enfermedad confirmada. El cidofovir, un análogo nucleotídico, muestra actividad contra poxvirus *in vitro* e *in vivo*. Se ha utilizado para tratar molusco contagioso e infecciones virales de ectima contagioso.

Epidemiología

La transmisión de la viruela tuvo lugar por contacto entre casos. Era muy contagiosa. El virus tenía estabilidad en el medio extracelular pero no se transmitía comúnmente por diseminación respiratoria. Los virus secos en costras de lesiones de piel sobrevivían en ropas u otros materiales y dan por resultado infecciones; esta propiedad se utilizó de vez en cuando en los comienzos de la guerra biológica.

Los pacientes fueron en su mayoría muy infecciosos durante la primera semana del exantema después que la fiebre había comenzado. Las gotitas respiratorias se tornaban infecciosas más pronto que las lesiones de piel.

Las siguientes características epidemiológicas convirtieron a la viruela en causa de la erradicación completa: no hubo reservorio no humano conocido. Hubo una vacuna efectiva, que resultó en inmunidad tanto para la viruela mayor como para la viruela menor. No se presentaron casos infecciosos subclínicos. Tampoco se identificó el estado de portador asintomático crónico del virus. La partícula viral en el entorno del paciente provino de lesiones en la boca y la faringe (y más tarde en la piel), razón por la cual los individuos con una infección lo suficiente intensa para transmitir la enfermedad muy posiblemente estuvieron tan graves que llamaron la atención de las autoridades médicas. El contacto íntimo necesario para la propagación eficaz de la enfermedad permitió la identificación fácil de los contactos del enfermo, de tal forma que fue posible emprender medidas de lucha específica para interrumpir el ciclo de transmisión.

La Organización Mundial de la Salud logró erradicar la viruela por medio de un programa de vigilancia-contención. Se identificó el origen de cada brote y se detectaron y vacunaron todos los contactos susceptibles.

Vacunación con vacuna preparada a partir de vaccinia

El virus de la enfermedad vacuna (vaccinia) usado para vacunación se prepara de las lesiones vesiculares (“linfa”), producidas en la piel de terneras o se obtiene por proliferación en embriones de pollo. El preparado final contiene 40% de glicerol para estabilizar el virus y 0.4% de fenol para destruir bacterias. Las normas de la Organización Mundial de la Salud exigen que las vacunas antivariolosas tengan una potencia no menor de 10^8 unidades formadoras de pústulas por mililitro. En 2007 en Estados Unidos se aprobó el uso de una nueva vacuna hecha con partículas vivas obtenidas de cultivo. La vacuna hecha a base de vaccinia no contiene el virus de la viruela.

La vacunación contra viruela se relacionó con un riesgo cuantificable definido. En Estados Unidos, el riesgo de muerte por todas las complicaciones fue de uno por millón en vacunas primarias y 0.6 por millón de vacunas de refuerzo. Para niños de menos de un año de edad, el riesgo de muerte fue cinco por



FIGURA 34-5 Eccema vacunal en un niño eccematoso de corta edad. La enfermedad surgió después de la exposición a un miembro de la familia recién vacunado. (Por cortesía de AE Kaye; Centers for Disease Control and Prevention Public Health Image Library.)

millón de vacunaciones primarias. Con inmunodeficiencia, inmunodepresión, tumores malignos y embarazo se presentaron complicaciones graves de la vacunación (figura 34-5). Tales condiciones son contraindicaciones para el empleo de vacunación contra variolovacuna, así como para eccema, alergia a un componente de la vacuna y por vivir en una casa familiar con alguien que tenga contraindicación para la vacunación.

Los buenos resultados de la erradicación de la viruela tuvieron como consecuencia la vacunación sistemática, que ya no se recomienda. En 1971 en Estados Unidos se interrumpió la vacunación antivariolosa sistemática en niños.

El virus de vaccinia fue utilizado en investigaciones y ha ocasionado infecciones adquiridas en el laboratorio. Las recomendaciones actuales señalan que se necesita vacunar, como mínimo, cada 10 años a trabajadores de laboratorio que manipulan cultivos o animales infectados por variolovacuna u otros ortopoxvirus que infectan personas. Las preocupaciones recientes en torno a un posible ataque terrorista que conlleva viruela han resultado en vacunación a escala limitada del personal militar y personas que responden al cuidado de salud de urgencia.

INFECCIONES POR VIRUELA DE LOS SIMIOS

El virus de viruela símica es una especie de *Orthopoxvirus*. La enfermedad se identificó por primera vez en monos en cautiverio, en 1958. Antes de 1970 se descubrieron infecciones en humanos por dicho virus en África Occidental y Central después de la erradicación de la viruela en esas regiones.

La enfermedad es una zoonosis rara, detectada en aldeas remotas de bosques lluviosos tropicales, en particular en países de la cuenca del Congo en África y posiblemente en África Occidental. Tal vez se contagia por contacto directo con animales salvajes, sacrificados para obtener su carne como alimento, y su piel. No se ha identificado el reservorio hospedador primario, pero puede haber infección de ardillas, conejos y roedores.

Los rasgos clínicos de la viruela del mono en seres humanos son parecidos a los de la viruela, pero de menor gravedad. En casi todos los enfermos hay linfadenopatía intensa, signo que no se observa con la viruela ni con la varicela.

Las complicaciones son frecuentes y suelen ser graves; por lo regular hay disfunción pulmonar e infecciones bacterianas secundarias. En sujetos no vacunados la tasa de mortalidad llega a veces a 10%. La aplicación de la variolovacuna protege de la viruela de los simios o aplaca su intensidad. Desde la fecha en que se abandonó la vacunación antivariolosa en países de África tropical ha aumentado notablemente el número de casos de viruela símica en humanos.

Suele pensarse que la infección de viruela símica en humanos no se transmite fácilmente de una persona a otra. Los cálculos previos indicaban que sólo aproximadamente 15% de los contactos familiares susceptibles se contagiaban de la viruela símica de los pacientes. Sin embargo, los datos de un brote en Zaire en 1996 y 1997 sugirieron una mayor posibilidad de transmisión de una persona a otra.

El primer brote de viruela símica en el hemisferio occidental se produjo en Estados Unidos en 2003. Se diagnosticaron más de 80 casos en humanos (no hubo fallecimientos), más bien en estados del Medio Oeste. El punto de partida fue una tienda de mascotas exóticas en la que al parecer una rata africana importada propagó el virus a perrillos de la pradera y de ellos a los humanos. Es posible que el virus de viruela símica aislada constituyera un virus atenuado naturalmente proveniente de África Occidental, menos patógeno para los humanos que los virus aislados en África Central.

INFECCIONES POR ENFERMEDAD VACUNA

El virus de la enfermedad vacuna es otra especie de *Orthopoxvirus*. La enfermedad afecta ganado vacuno, tiene menor intensidad que los cuadros variólicos de otros animales, y las lesiones se circunscriben a las tetas y las ubres (figura 34-6A). La infección de los humanos se produce por contacto directo durante la ordeña, y la lesión en ordeñadores se circunscribe a las manos (figura 34-6D). El ataque es más intenso en personas no vacunadas que en quienes han recibido el virus de vaccinia (variolovacuna).

El virus de la viruela vacuna es semejante inmunológicamente y en la identidad de sus huéspedes al de la vaccinia; también tiene una semejanza inmunológica íntima con el virus de la varicela. Jenner fue uno de los primeros en observar que las personas que tenían las viruelas vacunas eran inmunes a la viruela. Es posible diferenciar el virus de la viruela vacuna del de la vaccinia por las lesiones profundas hemorrágicas rojizas que origina el primero en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo.

El reservorio natural del virus de enfermedad vacuna al parecer es un roedor, y el ganado vacuno y los humanos son solamente hospedadores accidentales. Los gatos domésticos también son susceptibles al virus de la enfermedad vacuna. En el Reino Unido se han notificado más de 50 casos en felinos, pero se piensa que es poco común la transmisión de los gatos a los humanos. La viruela vacuna dejó de ser enzoótica en ganado vacuno, aunque en ocasiones surgen casos de ataque de tal ganado y de humanos vinculados con ellos. La viruela felina es esporádica y probablemente se transmita a partir de algún pequeño roedor salvaje, como serían los ratones silvestres. A veces hay ataque de humanos (en que surgen lesiones cutáneas hemorrágicas, fiebre y malestar general), sin que se hubiera producido algún contacto con animales y tal vez no se le diagnostique. No se cuenta con tratamiento alguno.

INFECCIONES POR VIRUELA DE BÚFALOS

El virus de la viruela de búfalos es un derivado del virus de variolovacuna (vaccinia) que ha persistido en India en el búfalo de río, porque se interrumpió la vacunación antivariolosa. La enfermedad de los búfalos (y a veces de ganado vacuno), es idéntica a la viruela vacuna. La infección de búfalos puede transmitirse a los seres humanos y aparecen lesiones vacunales localizadas. También existe alguna preocupación de que pueda surgir una transmisión de un humano a otro.

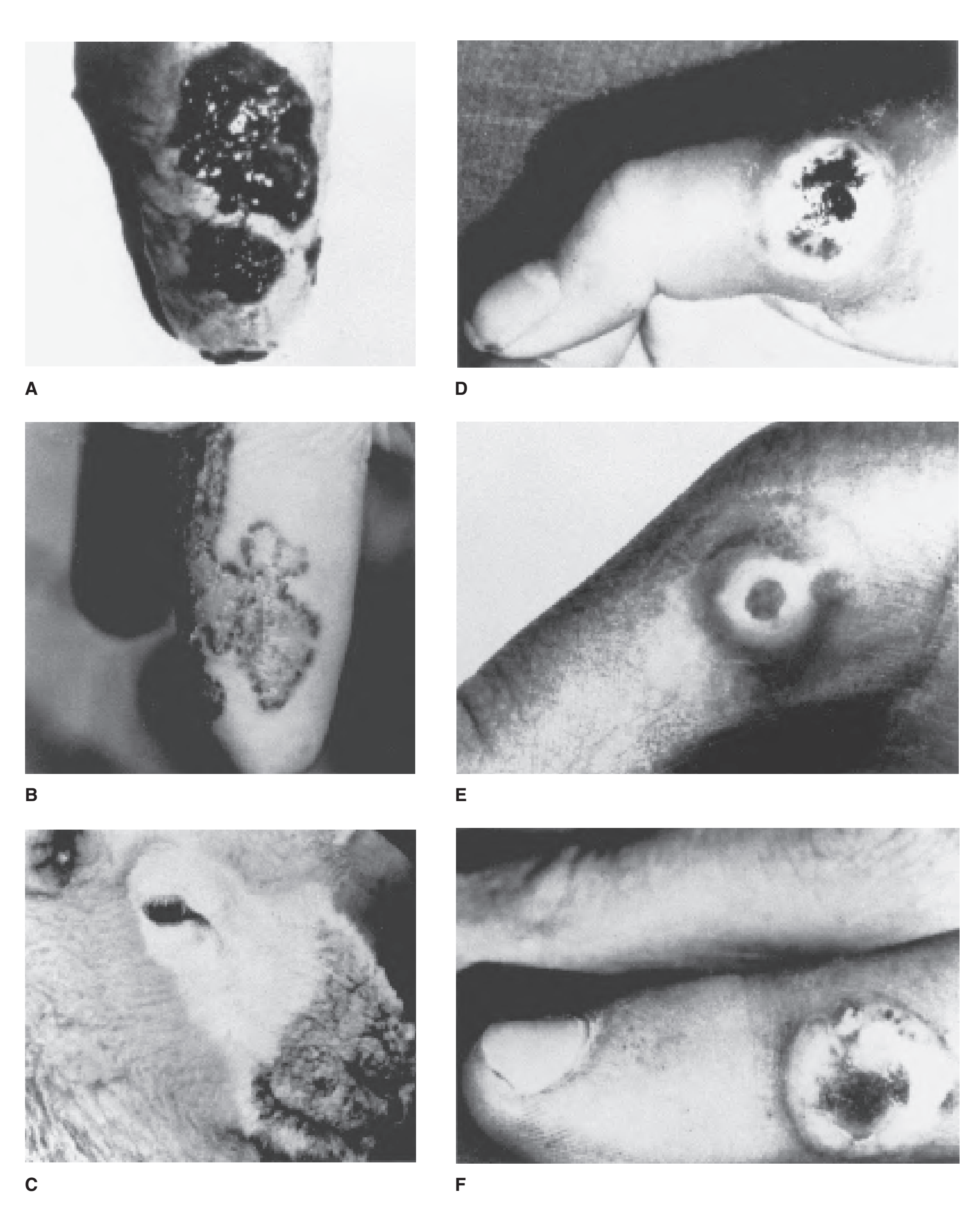


FIGURA 34-6 Animales y humanos con viruela vacuna, paravacuna y ectima contagioso. **A:** Úlcera de la viruela vacuna en la teta de una vaca, siete días después de comenzar los signos. **B:** El alastrim (virus de nódulo de ordeñador) en la teta de la vaca. **C:** Boca "encostrada" de una oveja causada por el virus de ectima contagioso. **D, E, F:** Lesiones en las manos causadas por los virus anteriores. **D:** Viruela vacuna. **E:** Nódulo de ordeñador (paravacuna). **F:** Ectima contagioso. (**A** y **B** por cortesía de EPJ Gibbs; **C** por cortesía de Anthony J. Robinson; **D** por cortesía de AD McNae; **E** y **F** por cortesía de J Nagington.)

INFECCIONES POR VIRUS DE ECTIMA CONTAGIOSO

El virus de la enfermedad comentada es una especie de *Parapoxvirus*. Afecta a ovejas y cabras y tiene una prevalencia mundial (figura 34-6C). La enfermedad también ha sido denominada dermatitis pustulosa contagiosa o ectima contagioso.

El ectima contagioso se transmite a las personas por contacto directo con un animal infectado. Es una enfermedad ocupacional de trabajadores que manipulan ovejas y cabras. Señalamientos recientes en Estados Unidos destacan el vínculo temporal entre las lesiones de seres humanos y la vacunación reciente de manadas con virus vivo de la enfermedad. La infección por dicho virus se facilita por el traumatismo de la piel. El ataque de los seres humanos suele aparecer después de una lesión aislada de un dedo, la mano o el antebrazo (figura 34-6F), pero puede surgir en la cara o el cuello. Las lesiones incluyen grandes nódulos muy dolorosos y la piel vecina está inflamada.

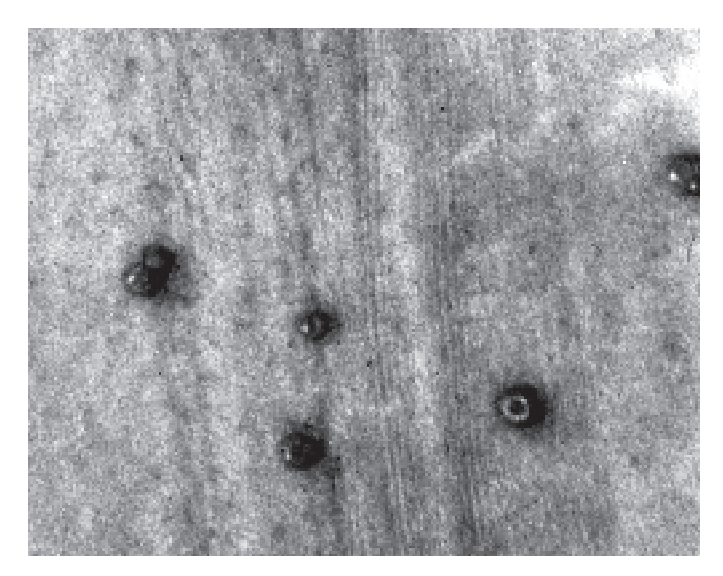


FIGURA 34-7 Lesiones del molusco contagioso en seres humanos. (Por cortesía de D Lowy.)

La infección rara vez se generaliza. Para la curación se necesita el transcurso de varias semanas.

Por microscopia electrónica se confirma la presencia de la infección por parapoxvirus, pero solamente por medio de métodos que analicen los ácidos nucleicos se puede identificar de manera definitiva un parapoxvirus como el agente del ectima contagioso.

MOLUSCO CONTAGIOSO

El molusco contagioso es un tumor benigno de la epidermis que ataca solamente a personas (a pesar de que hay datos de un virus muy semejante en los caballos). El agente causal se ha clasificado como el único miembro del género *Molluscipoxvirus*.

No se ha logrado transmitir el virus a animales, ni ha proliferado en cultivo hítico. Se ha usado la microscopia electrónica para estudiarlo en lesiones de humanos. El virus purificado tiene forma oval o rectangular y mide aproximadamente 230 nm × 330 nm; se asemeja al de la variolovacuna (vaccinia). Los anticuerpos contra el virus no muestran reacción cruzada con los demás poxvirus.

El DNA viral se asemeja al del virus de la vaccinia en lo que toca a los enlaces cruzados terminales y las repeticiones terminales invertidas. Su contenido global de G + C es en promedio de 60%. Se ha identificado la secuencia de todo el genoma del virus de molusco contagioso (≈190 kbp); contiene como mínimo 163 genes, y en promedio las dos terceras partes de ellos se asemejan a los de los genes de virus de viruela y enfermedad vacuna.

Las lesiones en esta enfermedad son tumores pequeños, de color rosa, verrugosos, en la cara, los brazos, el dorso y los glúteos (figura 34-7) y rara vez se identifican en las palmas y en las plantas o en las membranas mucosas. La enfermedad aparece en todo el mundo en sus formas esporádica y epidémica y es más frecuente en niños que en adultos. Se propaga por contacto directo e indirecto (como el caso de los barberos, uso común de toallas, nadar en piscinas).

La incidencia de molusco contagioso como enfermedad de transmisión sexual en adultos jóvenes va en aumento, también ha afectado a algunos individuos con sida. La piel en la etapa terminal de esta última enfermedad puede estar cubierta de innumerables pápulas. La lesión típica es una pápula umbilicada, pero las que aparecen en zonas húmedas de genitales pueden mostrar inflamación o ulceración y ser confundidas con las causadas por el virus del herpes simple (HSV, *herpes simplex virus*).

El periodo de incubación puede abarcar seis meses. Las lesiones a veces son pruríticas y ello ocasiona autoinoculación. Ellas pueden persistir incluso dos años, pero al final muestran regresión espontánea. El virus es un inmunógeno débil; 33% de los enfermos nunca generan anticuerpos contra él y los segundos ataques son frecuentes.

Por lo regular el diagnóstico de molusco contagioso se puede hacer sobre bases clínicas. Sin embargo, el personal exprime un material caseoso semisólido de las lesiones que se usa para el diagnóstico con técnicas de laboratorio. Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa se detectan las secuencias de DNA del virus y con la microscopia electrónica las partículas de poxvirus.



A



B

FIGURA 34-8 Lesiones producidas por el virus de la viruela tana. **A:** Diez días después de que apareció por primera vez la lesión. **B:** Treinta días después de la aparición de la lesión. (Por cortesía de Z Jezek.)

TUMORES SÍMICOS POR VIRUS TANAPOX Y YABA E INFECCIONES POR POXVIRUS

La viruela tana (tanapox) es una infección cutánea bastante frecuente en algunas zonas de África, en particular en Kenia y la República Democrática del Congo. Su hospedador natural probablemente sea el mono, aunque es factible que exista otro reservorio y que dichos animales sean sólo hospedadores fortuitos. Se desconoce el mecanismo de transmisión.

Los virus tumorales de monos tana y yaba muestran similitud serológica entre sí, pero son diferentes de otros poxvirus. Se les clasifica dentro del género *Yatapoxvirus*. Guardan semejanza morfológica con los ortopoxvirus. El genoma del virus tana tiene 160 kbp, en tanto que el poxvirus del tumor símico Yaba es menor (145 kbp; 32.5%, G + C). Los virus proliferan únicamente en cultivos de células símicas y de seres humanos, y ejercen efectos citopáticos. No proliferan en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados.

La viruela tana comienza con un periodo febril de tres a cuatro días y abarca síntomas como cefalea y postración intensas. Por lo común surgen una o dos lesiones en la piel y nunca aparecen pústulas (figura 34-8). La curación necesita a veces del transcurso de cuatro a siete semanas.

El poxvirus tumoral símico yaba origina histiocitomas benignos cinco a 20 días después de la administración subcutánea o intramuscular en monos. Los tumores muestran regresión después de unas cinco semanas. La administración endovenosa del virus hace que aparezcan múltiples histiocitomas en los pulmones, el corazón y los músculos de fibra estriada. No aparecen cambios neoplásicos verdaderos. El virus se aísla fácilmente del tejido tumoral y en células neoplásicas se identifican las inclusiones características. Los monos de diversas especies y los seres humanos son susceptibles a los efectos de proliferación celular del virus, pero no son susceptibles otros animales de laboratorio. En África se han observado infecciones en seres humanos que trabajan con animales.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los poxvirus son virus grandes y complejos que contienen muchas enzimas, incluido un sistema de transcripción.
- La familia poxviridae comprende el virus variólico, que es el agente causal de la viruela, la primera enfermedad por virus que se pudo erradicar del planeta.
- Los poxvirus codifican proteínas que inhiben el sistema de defensa inmunitario del hospedador.
- El virus de variolovacuna se utiliza para la vacunación antivariólica y es un modelo de laboratorio de poxvirus.
- Subsiste el riesgo de la vacunación antivariólica en casos de inmunodeficiencia, inmunodepresión, cánceres y embarazo.
- Casi todas las infecciones por poxvirus se acompañan de erupciones.
- El virus de la viruela constituye un posible agente de bioterrorismo, porque en la actualidad la población de grandes grupos tiene escasa o nula inmunidad.
- Algunos poxvirus de animales pueden infectar humanos como los de la viruela símica, la viruela vacuna, el ectima contagioso y el tanapox.
- Los pacientes con síntomas que sugieren virus de viruela necesitan ser aislados con tratamiento sintomático hasta que se excluya el diagnóstico de viruela.
- El molusco contagioso causa tumores epidérmicos benignos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un paciente se presenta en la sala de urgencias con lesiones vesiculares en ambas manos que semejan potencialmente viruela. Se comenzó una investigación de salud pública para descartarla. El paciente es un inmigrante que trabaja como pastor en varios estados. ¿Cuál es la causa más probable de sus lesiones cutáneas?
   (A) Virus de variolovacuna
   (B) Virus de viruela
   (C) Virus del mono
   (D) Virus de la viruela del río Tana (Kenia)
   (E) Virus de ectima contagioso
2. Un trabajador de servicios de urgencia está considerando la vacunación contra viruela debido a riesgo de bioterrorismo. ¿Cuál de las siguientes condiciones no es contraindicación para el uso de vacuna (viruela) contra variolovacuna (viruela) bajo condiciones no urgentes de rutina?
   (A) Inmunodepresión
   (B) Alergia grave a un componente de la vacuna
   (C) Contacto en casa con alguien que tiene eccema
   (D) Embarazo
   (E) Vacunación previa contra viruela
3. De los poxvirus siguientes, ¿cuál o cuáles infectan únicamente seres humanos?
   (A) Viruela símica
   (B) Molusco contagioso
   (C) Viruela tana
   (D) Viruela vacuna
   (E) Virus tumoral yaba
4. Un niño de siete años tiene lesiones similares a viruela en su mano y brazo izquierdos. Adquirió un roedor como mascota, importado de África Occidental. En él y en su mascota se diagnostica viruela símica. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál es la más precisa respecto al virus de la viruela símica?
   (A) El cuadro clínico en seres humanos se asemeja a la viruela
   (B) Las infecciones en seres humanos nunca son letales
   (C) No se obtiene protección con la vacunación antivariolosa
   (D) Las infecciones se transmiten fácilmente de un miembro de la familia a otro
   (E) Por medio de microscopia electrónica se pueden diferenciar las partículas virales de las del virus de la viruela
5. De las afirmaciones siguientes, ¿cuáles son las que mejor describen el estado de la vacuna antivariolosa (viruela) aprobada?
   (A) Se elabora con un virus vivo atenuado de viruela
   (B) Virus inactivado de viruela
   (C) Virus vivo de enfermedad variolovacuna (vaccinia)
   (D) Virus de vaccinia inactivado
   (E) Vacuna obtenida por bioingeniería que contiene virus de vaccinia y de viruela
6. De las afirmaciones siguientes, ¿cuáles no son válidas para la replicación del virus de vaccinia en células cultivadas?
   (A) El ciclo de replicación viral ocurre en el citoplasma de células infectadas

(B) La fase de pérdida de recubrimiento hace que se libere el genoma viral y necesita una proteína viral recién sintetizada
(C) Dentro de los núcleos virales se produce la transcripción temprana de más de los 50 genes virales y es un paso previo a la replicación del DNA viral
(D) Las partículas virales recién formadas maduran por eclosión y gemación a través de la membrana nuclear

7. ¿Qué característica del virus de la viruela lo convierte en amenaza extrema de bioterrorismo?
(A) Disponibilidad amplia del virus
(B) Cepas utilizadas para armas disponibles en varios laboratorios
(C) Inmunidad limitada en la población presente
(D) Bajas reservas de materias primas de fármacos efectos para el tratamiento
(E) Posible surgimiento del reservorio animal

8. Un paciente se presenta con lesiones de piel de apariencia similar al molusco contagioso. ¿Cómo puede realizarse el diagnóstico de esta afección?
(A) Cultivo viral
(B) Prueba antigénica rápida
(C) PCR para DNA viral
(D) Apariencia clínica
(E) Inoculación de membrana corioalantoidea de embriones de pollo

9. De los factores que se presentan, ¿cuál no cumple con los criterios de exposición a la vaccinia?
(A) Vacunación antivariolosa
(B) Contacto muy cercano con una persona que en fecha reciente recibió vacuna antivariolosa
(C) Exposición intrauterina
(D) Inyección de concentrado inmunoglobulínico de vaccinia

10. Un investigador intenta obtener el genoma completo del virus de varicela, para estudios de vacunación. De las instituciones siguientes, ¿cuál es la más adecuada para obtener DNA viral?
(A) Los Centros para Control y Prevención de Enfermedades
(B) Algún centro que colabora con la Organización Mundial de la Salud
(C) The American Type Culture Collection
(D) Un colega con un clon del virus de varicela
(E) Está prohibida la distribución del genoma viral en toda su longitud

11. Los científicos de laboratorio que trabajan con cultivos o animales infectados por el virus de vaccinia están en peligro de exposición accidental a virus. De los procedimientos siguientes, ¿cuál es el que menor beneficio brinda a un trabajador de laboratorio para protegerlo de la infección inadvertida con virus de vaccinia?
(A) Empleo apropiado del equipo protector personal, como guantes y anteojos
(B) Limpieza del espacio de trabajo de laboratorio antes de la experimentación
(C) Vacunación antivariolosa
(D) Prácticas en que se manipulan en forma segura agujas
(E) Empleo de caperuzas de bioseguridad

12. El virus de variolovacuna tiene todos los atributos siguientes, *excepto:*
(A) Causa enfermedad localizada o diseminada grave
(B) Es un virus vivo atenuado de viruela
(C) Induce inmunidad que dura sólo unos años
(D) Se le utilizó durante más de 200 años
(E) Es posible insertar en su genoma las secuencias génicas que codifican a otras proteínas virales.

13. La erradicación de la viruela fue facilitada por algunas de las características del virus. De las afirmaciones siguientes: ¿cuál fue la que contribuyó en *menor medida* a su erradicación?
(A) Posee un sólo tipo antigénico
(B) La infección no manifiesta es rara
(C) La aplicación de la vacuna de virus vivos induce con certeza inmunidad
(D) Se multiplica en el citoplasma de células infectadas

14. La aplicación de la vacuna hecha de variolovacuna protege de infecciones contra los poxvirus siguientes, *excepto*:
(A) Molusco contagioso
(B) Variola
(C) Viruela vacuna
(D) Viruela de los simios

Respuestas

1. E	5. C	9. D	13. D
2. E	6. D	10. E	14. A
3. B	7. C	11. B	
4. A	8. D	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Li Y, Carroll DS, Gardner SN, *et al.*: On the origin of smallpox: Correlating variola phylogenics with historical smallpox records. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:15787.
MacNeil A, Reynolds MG, Damon IK: Risks associated with vaccinia virus in the laboratory. *Virology* 2009;385:1.
McFadden G: Poxvirus tropism. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:201.
Moss B: Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:11341.
Surveillance guidelines for smallpox vaccine (vaccinia) adverse reactions. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-1):1.
Vaccinia (smallpox) vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2001. *MMWR Recomm Rep* 2001;50(RR-10):1.
Wharton M, Strikas RA, Harpaz R, *et al.*: Recommendations for using smallpox vaccine in a pre-event vaccination program: Supplemental recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-7):1.
WHO recommendations concerning the distribution, handling and synthesis of variola virus DNA, May 2008. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2008;83:393.

C A P Í T U L O

35

Virus de la hepatitis

La hepatitis viral es una enfermedad de orden general que afecta predominantemente el hígado. Casi todos los casos de esta enfermedad aguda en niños y adultos son causados por algunos de los cinco agentes siguientes: virus de hepatitis A (HAV; *hepatitis A virus*), el agente causal de la hepatitis viral (infecciosa); virus de hepatitis B (HBV; *hepatitis B virus*) que causa la hepatitis viral B (del suero); virus de hepatitis C (HCV; *hepatitis C virus*) que es el agente causal de la hepatitis C (causa frecuente de la hepatitis postransfusional); hepatitis D (HDV; *hepatitis D virus*), un virus "defectuoso" que depende de la infección simultánea con HBV o el virus de hepatitis E (HEV; *hepatitis E virus*) el agente de la hepatitis de transmisión entérica. En otros capítulos se describen virus adicionales bien caracterizados que pueden causar hepatitis esporádica, tales como virus de la fiebre amarilla, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple, virus de la rubéola y enterovirus. Los virus de la hepatitis producen una inflamación aguda del hígado que causa enfermedad clínica caracterizada por fiebre, síntomas digestivos como náusea, vómito e ictericia. Sin importar el tipo de virus, durante la enfermedad aguda se observan lesiones histopatológicas idénticas en el hígado.

PROPIEDADES DE LOS VIRUS DE LA HEPATITIS

En el cuadro 35-1 se muestran las características de los cinco virus de la hepatitis conocidos. En el cuadro 35-2 se presenta la nomenclatura de los virus de la hepatitis, los antígenos y los anticuerpos.

Hepatitis tipo A

El HAV es un miembro diferente de la familia de los Picornavirus (capítulo 36); es una partícula esférica de 27 a 32 nm con simetría cúbica que contiene un genoma lineal de RNA monocatenario con un tamaño de 7.5 kb. Ha sido asignado al género de picornavirus, *Hepatovirus*. Se conoce únicamente un serotipo. No se advierte reactividad cruzada antigénica con cualquier otro virus de hepatitis. El análisis de la secuencia genómica de una región variable en la unión de los genes 1D y 2A permitió clasificar las cepas de HAV en siete genotipos. En el cuadro 36-1 se enumeran las propiedades importantes de la familia *Picornaviridae*.

El HAV es estable al tratamiento con éter al 20%, ácido (pH de 1.0 durante 2 h) y al calor (60 °C durante 1 h) y su infectividad puede conservarse por lo menos durante un mes después de desecarse y almacenarse a una temperatura de 25 °C o durante años a temperatura de −20 °C. El virus se destruye con el autoclave (121 °C durante 20 min), ebullición en agua por 5 min, con calor seco (180 °C por 1 h), por radiación ultravioleta (1 min a 1.1 watts), mediante el tratamiento con formalina (1:4 000 durante tres días a una temperatura de 37 °C) o por el tratamiento con cloro (10 a 15 ppm durante 30 min). Es necesario calentar el alimento a una temperatura > 85 °C durante un minuto y desinfectar las superficies con hipoclorito de sodio (dilución de blanqueador de cloro a 1:100) para inactivar al HAV. La resistencia relativa de este virus a los procedimientos de desinfección resalta la necesidad de precauciones adicionales para tratar a los pacientes con hepatitis y sus productos.

El HAV se identificó inicialmente en heces y muestras de biopsias de hígado utilizando microscopia electrónica con técnicas inmunológicas como sistema de detección (figura 35-1). Los análisis serológicos sensibles y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) permiten la detección de HAV en las heces y otras muestras y determinar anticuerpos específicos en suero.

Las líneas celulares de diversos primates respaldan el desarrollo del HAV, aunque las cepas frescas de virus son difíciles de adaptarse y desarrollarse. Por lo general no se manifiestan efectos citopáticos. Las mutaciones en el genoma viral se seleccionan durante la adaptación al cultivo de tejido.

Hepatitis tipo B

El HBV se clasifica como un hepadnavirus (cuadro 35-3); desarrolla infecciones crónicas, sobre todo en las personas infectadas durante la lactancia; es un factor importante para el desarrollo de una enfermedad hepática y el carcinoma hepatocelular en estos individuos.

A. Estructura y composición

El estudio con microscopia electrónica de suero positivo para HBsAg revela tres formas morfológicas (figuras 35-2 y 35-3A). La mayoría son partículas esféricas que miden 22 nm de diámetro (figura 35-3B). Estas partículas pequeñas están constituidas exclusivamente por HBsAg, pues son formas tubulares o filamentosas que tienen el mismo diámetro pero que pueden tener una longitud de más de 200 nm, y se deben a la producción excesiva de HBsAg. Los viriones esféricos más grandes, de 42 nm (originalmente designados como partículas de Dane) se observan con menos frecuencia (figura 35-2). La superficie externa, o envoltura, contiene HBsAg y rodea un centro de núcleo cápside interna de 27 nm que contiene HBcAg (figura

apter 35_Carroll_4R.indd 495 15/04/16

CUADRO 35-1 Características de los virus de la hepatitis

Virus	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Familia	Picornaviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	No clasificada	Hepeviridae
Género	*Hepatovirus*	*Orthohepadnavirus*	*Hepacivirus*	*Deltavirus*	*Hepevirus*
Virión	27 nm, icosaédrico	42 nm, esférico	60 nm, esférico	35 nm, esférico	30 a 32 nm, icosaédrico
Envoltura	No	Sí (HBsAg)	Sí	Sí (HBsAg)	No
Genoma	ssRNA	dsDNA	ssRNA	ssRNA	ssRNA
Tamaño del genoma (kb)	7.5	3.2	9.4	1.7	7.2
Estabilidad	Estable en calor y ácido	Sensible al ácido	Sensible al éter, sensible al ácido	Sensible al ácido	Termoestable
Transmisión	Fecal-oral	Parenteral	Parenteral	Parenteral	Fecal-oral
Prevalencia	Alta	Alta	Moderada	Baja, regional	Regional
Enfermedad fulminante	Infrecuente	Infrecuente	Infrecuente	Frecuente	En embarazo
Enfermedad crónica	Nunca	Frecuente	Frecuente	Frecuente	Nunca
Oncógeno	No	Sí	Sí	Desconocido	No

ds, bicatenario; HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B; ss, monocatenario.

35-3C). La longitud variable de una región monocatenaria del genoma de DNA circular produce partículas genéticamente heterogéneas con una amplia gama de densidades de flotación.

El genoma viral (figura 35-4) consta de DNA circular parcialmente bicatenario de 3 200 bp de longitud. Las cepas de HBV diferentes comparten una homología de secuencia nucleotídica de 90 a 98%. La cadena negativa de longitud uniforme de DNA (cadena L o larga) es complementaria a todos los mRNA de HBV; la cadena de sentido positivo (cadena S o corta) es variable y tiene una longitud unitaria entre 50 y 80 por ciento.

Existen cuatro marcos de lectura abiertos que codifican siete polipéptidos. Éstos son las proteínas estructurales de la superficie y centro del virión, un transactivador transcripcional pequeño (X) y una proteína de polimerasa grande (P) que incluye a la DNA polimerasa, a la transcriptasa reversa y a la actividad de ribonucleasa H. El gen S tiene tres codones de iniciación dentro del marco y codifica al HBsAg principal, así como los polipéptidos que contienen además secuencias pre-S2 o pre-S1 y secuencia pre-S2. El gen C tiene dos codones de iniciación dentro del marco y codifica HBcAg más la proteína HBe, la cual es procesada para producir HBeAg soluble.

Las partículas que contienen HBsAg son antigénicamente complejas. Cada una contiene un antígeno específico de grupo, *a*, además de las dos porciones de subdeterminantes mutuamente exclusivas, *d/y* y *w/r*. Por consiguiente, se han observado cuatro fenotipos de HBsAg: *adw, ayw, adr* y *ayr*. En Estados Unidos, *adw* es el subtipo predominante. Estos biomarcadores específicos de virus son útiles en investigaciones epidemiológicas, porque los casos secundarios tienen el mismo subtipo que el caso índice.

La estabilidad de HBsAg no siempre coincide con la del compuesto infeccioso. Sin embargo, los dos son estables a una temperatura de –20 °C durante más de 20 años y estables al congelamiento y descongelamiento repetidos. El virus también es estable a una temperatura de 37 °C durante 60 min y se mantiene viable después de desecarse y almacenarse a 25 °C por lo menos durante una semana. El HVB (pero no HBsAg) es sensible a temperaturas más elevadas (100 °C durante 1 min) o a periodos de incubación más prolongados (60 °C durante 10 h). HBsAg se mantiene estable a un pH de 2.4 hasta por 6 h, pero se pierde la infectividad del HVB. El hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., blanqueador de cloro a 1:10), destruye la antigenicidad luego de 3 min a concentraciones bajas de proteína, pero las muestras de suero no diluido necesitan concentraciones más altas (5%). HBsAg no se destruye con la radiación ultravioleta del plasma u otros hemoderivados, y la infectividad viral también presenta resistencia a tal tratamiento.

B. Replicación del virus de la hepatitis B

El virión infeccioso se adhiere a las células y pierde su envoltura (figura 35-5). En el núcleo, el genoma viral parcialmente bicatenario se convierte a DNA bicatenario circular cerrado en forma covalente (cccDNA). El cccDNA sirve de molde (plantilla) para todos los transcriptos virales, incluido el RNA de pregenoma de 3.5 kb, éste se encapsida con HBcAg recién sintetizado. Dentro de los núcleos, la polimerasa viral sintetiza una copia de DNA de sentido negativo mediante transcripción inversa. La polimerasa comienza a sintetizar la cadena de ADN de sentido positivo, pero no se concluye el proceso. Los centros experimentan gemación en las membranas pre-Golgi, adquiriendo envolturas que contienen HBsAg y pueden salir de la célula. Como alternativa, los centros pueden reimportarse hacia el núcleo e iniciar otra ronda de replicación en la misma célula.

Hepatitis tipo C

Los estudios clínicos y epidemiológicos y los experimentos de inducción cruzada en los chimpancés habían señalado que existían varios virus de la hepatitis no A, no B (NANB), los cuales, con base en análisis serológicos, no estaban relacionados con HAV o HBV. El virus principal se identificó como el virus de la hepatitis C (HCV). Éste es un virus de RNA de cadena positiva, clasificado bajo la familia Flaviviridae, género *Hepacivirus*. Con el análisis de la secuencia de RNA se pueden

CUADRO 35-2 Nomenclatura y definiciones de virus, antígenos y anticuerpos de la hepatitis

Enfermedad	Componente del sistema	Definición
Hepatitis A	HAV	Virus de la hepatitis A. Microorganismo causante de la hepatitis infecciosa. Un picornavirus, el prototipo del género *Hepatovirus*
	Anti-HAV	Anticuerpo contra HAV. Detectable al inicio de los síntomas; persiste de por vida
	IgM anti-HAV	Anticuerpos IgM contra HAV. Indica infección reciente con hepatitis A; positivo hasta 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis B	HBV	Virus de la hepatitis B. Microorganismo causante de la hepatitis sérica. Un hepadnavirus.
	HBsAg	Antígeno de superficie B de la hepatitis; antígeno (s) de superficie de HBV detectable en gran cantidad en suero; varios subtipos identificados
	HBeAg	Antígeno e de la hepatitis B. Se relaciona con la nucleocápside de HBV; indica replicación viral; circula como antígeno soluble en suero
	HBcAg	Antígeno central de la hepatitis B
	Anti-HBs	Anticuerpos contra HBsAg. Indica una infección previa con HBV e inmunidad al mismo; presencia de anticuerpo pasivo de HBIG, o respuesta inmunitaria de la vacuna HBV
	Anti-HBe	Anticuerpos contra HBeAg. La presencia en el suero de portador de HBV indica un título más bajo de HBV
	Anti-HBc	Anticuerpos contra HBcAg. Indica infección con HBV en algún momento previo indefinido
	IgM anti-HBc	Anticuerpos IgM contra HBcAg. Indica infección reciente con HBV; positivo durante 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis C	HCV	Virus de la hepatitis C, un microorganismo causante frecuente de la hepatitis subsiguiente a transfusiones. Un flavivirus, género *Hepacivirus*
	Anti-HCV	Anticuerpos contra HCV
Hepatitis D	HDV	Virus de la hepatitis D. Microorganismo etiológico de la hepatitis delta; causa infección sólo en presencia de HBV
	HDAg	Antígeno delta (Ag delta). Detectable en la infección aguda inicial por HDV
	Anti-HDV	Anticuerpos contra Ag delta (anti-delta). Indica infección previa o presente por HDV
Hepatitis E	HEV	Virus de la hepatitis E. Virus de la hepatitis transmitido por vía entérica. Produce grandes epidemias en Asia, norte y occidente de África y México; transmisión fecal-oral o en el agua. Un herpesvirus
Inmunoglobulinas	IG	Inmunoglobulina USP. Contiene anticuerpos contra HAV; no anticuerpos con HBsAg, HCV o VIH
	HBIG	Inmunoglobulina de la hepatitis B. Contiene altos títulos de anticuerpos contra HBV

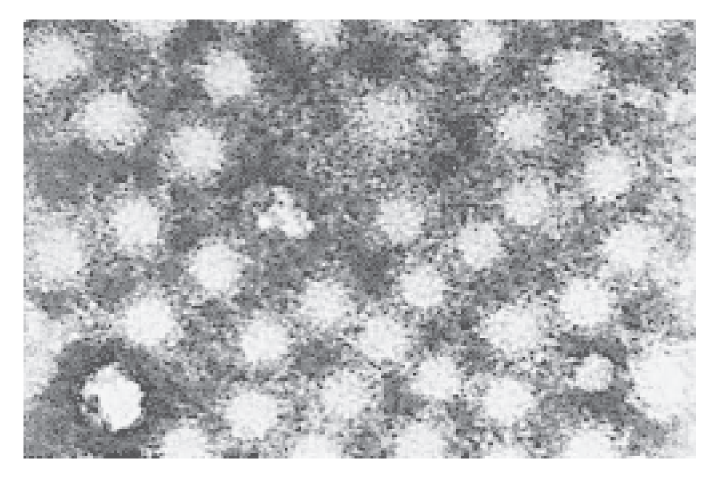


FIGURA 35-1 Microfotografía electrónica de un virus de la hepatitis A de 27 nm agregado con anticuerpo (222 000 ×). Obsérvese la presencia de un "halo" de anticuerpo alrededor de cada partícula. (Cortesía de DW Bradley, CL Hornbeck y JE Maynard.)

diferenciar varios virus en por lo menos seis genotipos principales (clados) y más de 100 subtipos. Los genotipos difieren entre sí en 25 a 35% al nivel del nucleótido; los subtipos lo hacen en 15 a 25%. El genoma es de 9.4 kb de tamaño y codifica una proteína central, dos glucoproteínas de la envoltura y varias proteínas no estructurales (figura 35-6). La expresión de clones de cDNA de HCV en levaduras dio por resultado el desarrollo de análisis serológicos para anticuerpos contra HCV. La mayor parte de los casos de hepatitis de NANB consecutivas a transfusiones eran causados por HCV.

Casi todas las nuevas infecciones por HCV son subclínicas. La mayor parte de los pacientes infectados con este virus (70 a 90%) presenta hepatitis crónica y muchos corren el riesgo de evolucionar a hepatitis activa crónica y cirrosis (10 a 20%). En 1 a 5% de individuos infectados la infección por HCV desencadena carcinoma hepatocelular, que es la quinta causa más frecuente de cáncer a nivel mundial. Casi 25 000 individuos fallecen cada año por hepatitis crónica y cirrosis en Estados Unidos; el HCV al parecer contribuye de manera importante a esta cifra (alrededor de 40 por ciento).

CUADRO 35-3 Propiedades importantes de los hepadnavirus[a]

Virión: Casi 42 nm de diámetro en general (nucleocápsides, 18 nm)
Genoma: Una molécula de DNA bicatenario, circular, de 3.2 kbp. En el virión, la cadena de DNA negativa tiene longitud completa y la cadena de DNA positiva está parcialmente completa. La brecha debe completarse al inicio del ciclo de replicación
Proteínas: Dos polipéptidos importantes (uno glucosilado) están presentes en HBsAg; un polipéptido está presente en HBcAg
Envoltura: Contiene HBsAg y lípido
Replicación: Por medio de una copia de RNA intermedio del genoma de DNA (HBcAg en el núcleo; HBsAg en el citoplasma). Tanto el virus maduro como las partículas esféricas de 22 nm constan de HBsAg secretado por la superficie celular
Características destacadas: La familia está constituida por muchos tipos que infectan al ser humano y a los animales inferiores (p. ej., patos, ardillas, marmotas) Causa hepatitis aguda y crónica, que a menudo avanza a los estados de portador permanentes y carcinoma hepatocelular

HBcAg, antígeno central de hepatitis B; HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B.

[a] En el caso del virus de hepatitis A, consúlte las características de los picornavirus (cuadro 36-1); en lo tocante al virus de hepatitis C consulte la descripción de los flavivirus (cuadro 38.1).

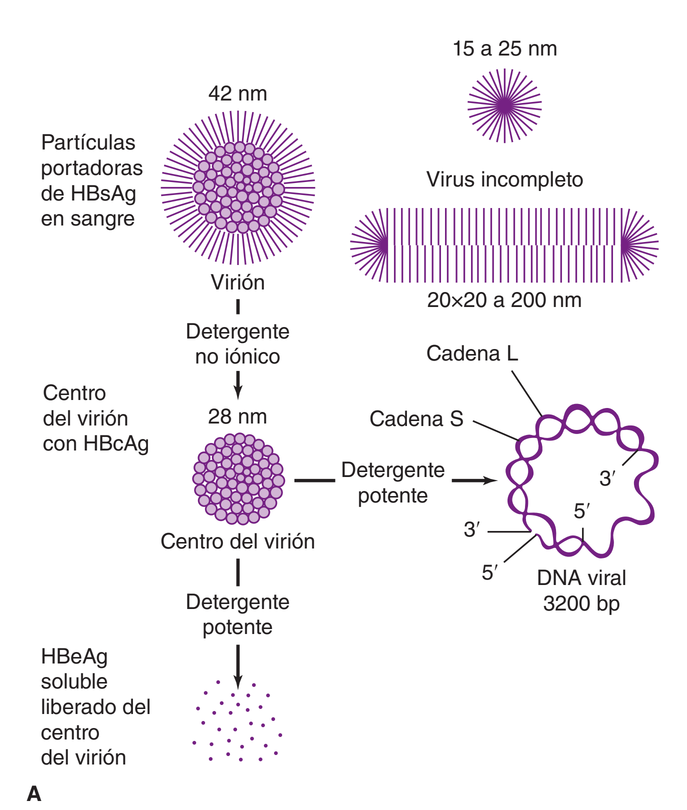
El virus experimenta una variación de la secuencia durante las infecciones crónicas. Esta población viral compleja en un hospedador se designa como "cuasiespecie". Tal diversidad genética no se correlaciona con diferencias en la enfermedad clínica, aunque existen diferencias en la respuesta al tratamiento antiviral según el genotipo viral.

Hepatitis tipo D (hepatitis delta)

En algunas infecciones por el HBV se detectan el antígeno delta (Ag delta) y el anticuerpo delta (anti-delta). El antígeno se encuentra dentro de determinadas partículas de HBsAg. En la sangre, HDV (virus delta) contiene Ag delta (HDAg) rodeado por una envoltura de HBsAg. Tiene una partícula de 35 a 37 nm y una densidad de flotación de 1.24 a 1.25 g/ml en CsCl. El genoma de HDV consta de un RNA monocatenario, circular, de polaridad negativa, de 1.7 kb de tamaño. Es el más pequeño de los microorganismos patógenos humanos conocido y se parece a los subvirus patógenos de plantas, es decir, viroides. No existe ninguna homología respecto al genoma de HBV. La HDAg es la única proteína codificada por RNA de HDV y es diferente a los determinantes antigénicos de HBV. El HDV es un virus defectuoso que adquiere una cubierta de HBsAg para su transmisión. A menudo se relaciona con las formas más graves de hepatitis en los pacientes positivos para HBsAg. Se clasifica en el género *Deltavirus,* el cual no se asigna a ninguna familia de virus.

Hepatitis tipo E

El virus de la hepatitis E (HEV) se transmite por vía entérica y se presenta en forma epidémica en los países en vías de desarrollo, donde los suministros de agua o alimentos a veces



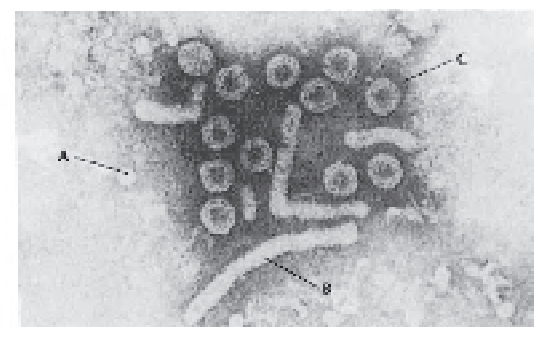


FIGURA 35-2 Formas virales y subvirales de la hepatitis B. **A:** Representaciones esquemáticas de tres formas que contienen HBsAg que pueden identificarse en el suero de portadores del VHB. La partícula de Dane esférica de 42 nm puede destruirse mediante detergentes no iónicos para liberar el centro de 28 nm que contienen el genoma de DNA viral parcialmente bicatenario. Un antígeno soluble, denominado HBeAg, puede liberarse de las partículas del centro mediante el tratamiento con un detergente potente. HBcAg, antígeno central de hepatitis B. **B:** Microfotografía electrónica que muestra tres formas de portadores de HBsAg diferentes: partículas esféricas pleomórficas de 20 nm (A), formas filamentosas (B) y partículas de Dane esféricas de 42 nm, la forma infecciosa de HBV (C). (Cortesía de FB Hollinger.)

están contaminados por heces. Fue documentada inicialmente en muestras obtenidas durante el brote epidémico de 1955 en Nueva Delhi, cuando se presentaron 29 000 casos de hepatitis ictérica tras la contaminación del suministro de agua potable de la ciudad por aguas residuales. En 1978, la epidemia surgida en Kashmir, India causó 1 700 muertes, según estimaciones. Las embarazadas muestran una tasa muy alta de mortalidad (20%) en caso de surgir hepatitis fulminante. El genoma viral

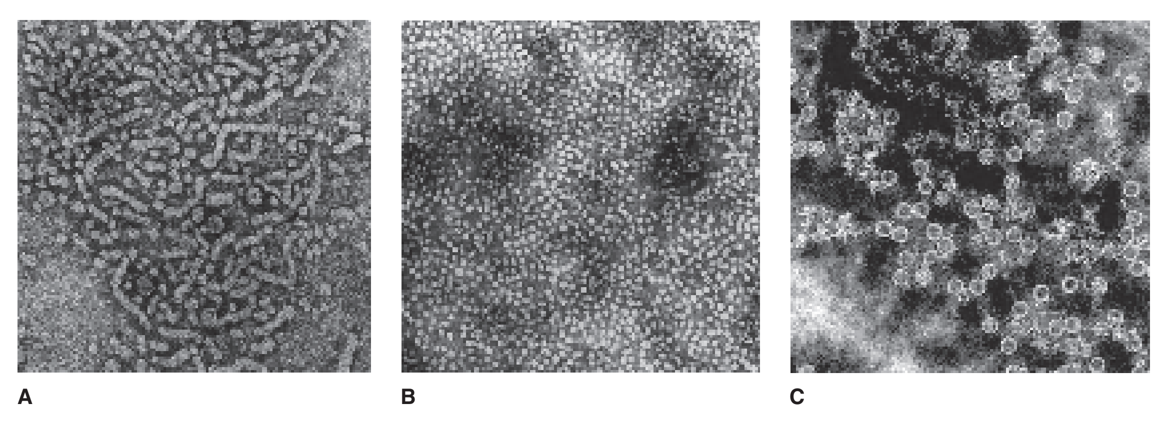


FIGURA 35-3 **A:** Plasma humano no fraccionado positivo para HBsAg. Se muestran los filamentos, las partículas esféricas de 22 nm y algunos viriones de 42 nm (77 000 ×). **B:** HBsAg purificado (55 000 ×). (Cortesía de RM McCombs y JP Brunschwig.) **C:** HBcAg purificado de núcleos de hígado infectado (122 400 ×). El diámetro de las partículas del centro es de 27 nm. (Cortesía de HA Fields, GR Dreesman y G Cabral.)

ha sido clonado y es RNA monocatenario en sentido positivo de 7.2 kb de tamaño. El virus está dentro de la familia Heperividae del genero *Hepevirus*. HEV se asemeja a los calicivirus, aunque es diferente de ellos. Las cepas animales de HEV son frecuentes en todo el mundo. En Estados Unidos hay indicios de infecciones por HEV o similares a HEV en roedores, cerdos, carneros y ganado bovino. Existe la posibilidad de que el virus se difunda de los animales al ser humano.

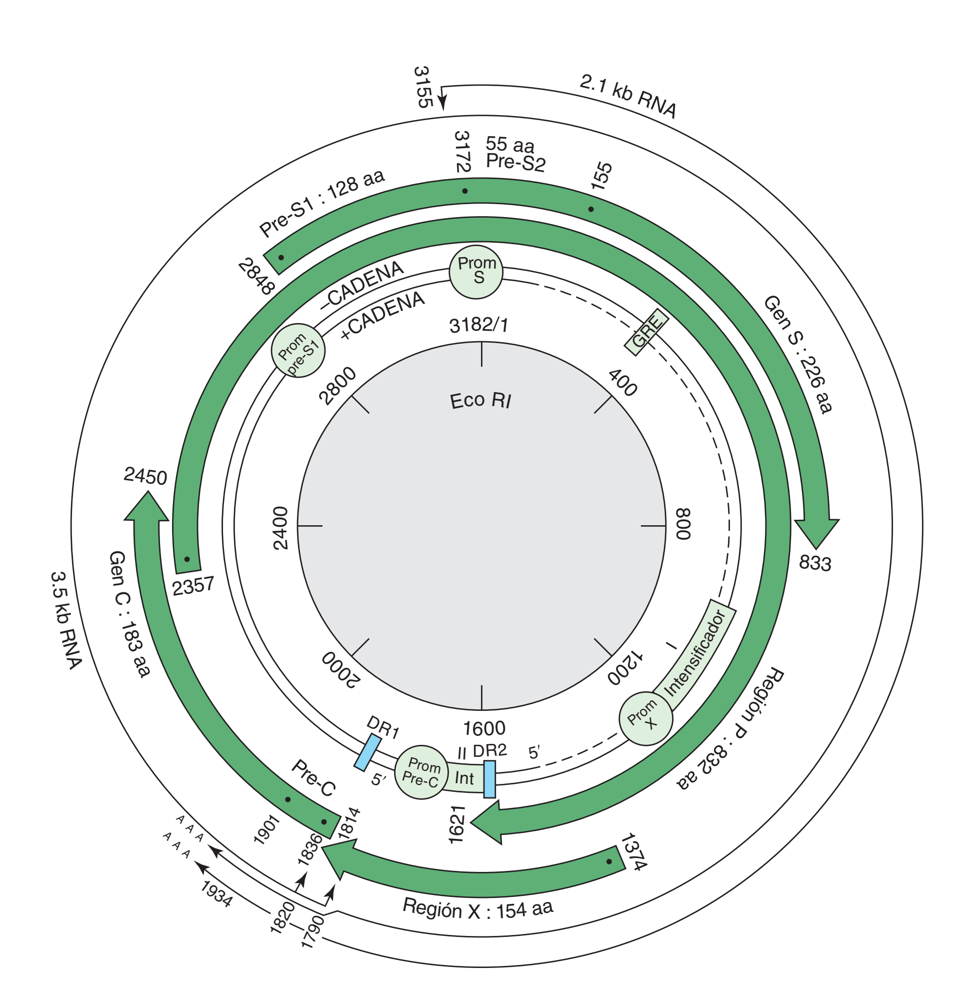


FIGURA 35-4 Organización genética del genoma del HVB. Cuatro marcos de lectura abiertos que codifican siete péptidos están señalados con *flechas grandes*. Están marcadas las secuencias reguladoras (promotores [prom], los intensificadores [Int] y el elemento de respuesta a glucocorticoide [GRE]). Sólo están representados los dos transcriptos principales (centro/pre-genoma y mRNA S). DR1 y DR2 son dos secuencias directamente repetidas de 11 bp en las extremidades 5′ del DNA de cadena negativa y positiva. (Reproducida con autorización de Buendia MD: Hepatitis B viruses and hepatocellular carcinoma. *Adv Cancer Res* 1992;59:167. Academic Press, Inc.)

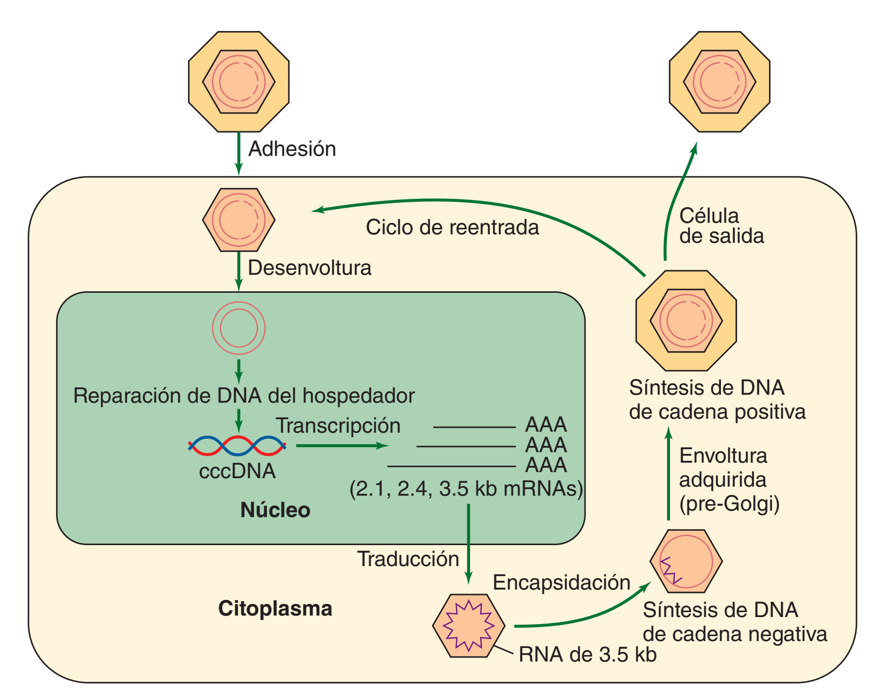


FIGURA 35-5 Ciclo de replicación de HBV. La adhesión de HBV a un receptor en la superficie de los hepatocitos ocurre a través de una porción de la región pre-S de HBsAg. Después de la desenvoltura del virus, las enzimas celulares no identificadas convierten el DNA parcialmente bicatenario en DNA circular cerrado en forma covalente (ccc) que puede detectarse en el núcleo. El cccDNA sirve de plantilla para la producción de mARN de HBV y el pregenoma de RNA de 3.5 kb. El pregenoma sufre encapsidación por una señal de envoltura ubicada cerca del extremo 5′ del RNA en partículas del centro recién sintetizadas, donde sirve de plantilla para la transcriptasa inversa de HBV codificada dentro del gen de la polimerasa. Una actividad de ribonucleasa H de la polimerasa retira la plantilla de RNA a medida que se sintetiza el DNA de cadena negativa. La síntesis de DNA de cadena positiva no procede hasta su conclusión dentro del centro, lo que da por resultado productos intermedios replicativos que constan de DNA de cadena negativa de longitud completa más DNA de cadena positiva de longitud variable (20 a 80%). Las partículas de centro que contienen estos intermediarios replicativos de DNA experimentan brotes desde las membranas de pre-Golgi (adquiriendo HBsAg en el proceso) y pueden salir de la célula o volver a entrar en el ciclo de infección intracelular. (Reproducida con autorización de Butel JS, Lee TH, Slagle BL: Is the DNA repair system involved in hepatitis-B-virus-mediated hepatocellular carcinogenesis? *Trends Microbiol* 1996;4:119.)

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS EN SERES HUMANOS

Anatomía patológica

El término hepatitis es un término general que significa inflamación del hígado. En el examen microscópico hay una degeneración de la célula parenquimatosa en placas, con necrosis de hepatocitos, una reacción inflamatoria lobular difusa y destrucción de los cordones de hepatocitos. Estos cambios parenquimatosos se acompañan de hiperplasia de células reticuloendoteliales (de Kupffer), infiltración periportal por células mononucleares y degeneración celular. A menudo se observan zonas circunscritas de necrosis. En una etapa más avanzada de la enfermedad hay una acumulación de macrófagos cerca de los hepatocitos en degeneración. La conservación de la estructura reticular permite la regeneración del hepatocito de manera que con el tiempo puede recuperarse la estructura tan ordenada del lóbulo hepático. El tejido hepático lesionado suele restablecerse en un lapso de ocho a 12 semanas.

Los portadores crónicos de HBsAg pueden o no presentar manifestaciones clínicas evidentes de enfermedad hepática. La hepatitis viral persistente (no resuelta), una enfermedad benigna leve que puede surgir tras la hepatitis B aguda en 8 a 10% de

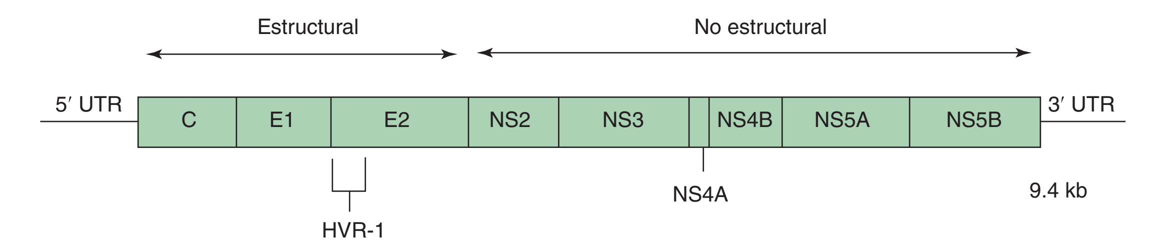


FIGURA 35-6 Organización genética del genoma de HCV. El marco de lectura abierto individual es expresado como una poliproteína que se procesa; se muestran las posiciones de los dominios estructurales y no estructurales. HVR-1 representa la región muy variable de una glucoproteína de envoltura. (Redibujada con autorización de Chung RT, Liang TJ: Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma. Con autorización de Parsonnet J [editor] *Microbes and Malignancy; Infection as a Cause of Human Cancers*. Oxford University Press, 1999.)

los pacientes adultos, se caracteriza por concentraciones esporádicas anormales de aminotransferasa y hepatomegalia. En el examen histológico se conserva la estructura lobular, observándose inflamación portal, hepatocitos hinchados y pálidos (disposición en empedrado) y fibrosis leve a nula. Esta lesión a menudo se observa en portadores asintomáticos, por lo general no evoluciona hacia la cirrosis y tiene un pronóstico favorable.

La hepatitis activa crónica se caracteriza por una gama de cambios histológicos que van desde la inflamación y la necrosis hasta la destrucción de la estructura reticular normal con formación de puentes entre las tríadas portales o las venas hepáticas terminales. Se detecta HBV en el 10 al 50% de estos pacientes.

Algunas veces durante una hepatitis viral aguda, puede ocurrir daño más considerable que impida la regeneración ordenada de las células hepáticas. Dicha necrosis hepatocelular fulminante o masiva se observa en el 1 al 2% de los pacientes ictéricos con hepatitis B. Es 10 veces más frecuente en presencia de una infección concomitante por el HDV que en ausencia de ésta.

Tanto HBV como HCV influyen de manera importante en el desarrollo del carcinoma hepatocelular que puede ocurrir muchos años (15 a 60) después del establecimiento de una infección crónica.

Manifestaciones clínicas

En el cuadro 35-4 se resumen las manifestaciones clínicas de las infecciones por HAV, HBV y HCV. En los casos individuales no es posible establecer una diferenciación clínica fiable entre los casos causados por los virus de la hepatitis.

Otras enfermedades virales que pueden presentarse como hepatitis son mononucleosis infecciosa, fiebre amarilla, infección por citomegalovirus, herpes simple, rubéola y algunas infecciones por enterovirus. En ocasiones se presenta hepatitis como una complicación de leptospirosis, sífilis, tuberculosis, toxoplasmosis o amebiasis, todas son susceptibles a la farmacoterapia específica. Las causas no infecciosas son obstrucción biliar, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Wilson, toxicidad de fármacos y reacciones de hipersensibilidad a fármacos.

En la hepatitis viral, la presencia de la ictericia suele ir precedida de síntomas gastrointestinales como náusea, vómito, anorexia y fiebre leve. Puede aparecer ictericia a los pocos días del periodo prodrómico, pero es más frecuente la hepatitis anictérica.

Las manifestaciones extrahepáticas de la hepatitis viral (principalmente la tipo B) comprenden un pródromo transitorio parecido al de la enfermedad por el suero y que se

CUADRO 35-4 Características epidemiológicas y manifestaciones clínicas de las hepatitis virales de tipos A, B y C

Característica	Hepatitis viral de tipo A	Hepatitis viral de tipo B	Hepatitis viral de tipo C
Periodo de incubación	10 a 50 días (promedio 25 a 30)	50 a 180 días (promedio, 60 a 90)	15 a 160 días (promedio, 50)
Principal distribución por edades	Niños,[a] adultos jóvenes	15 a 29 años,[b] lactantes	Adultos[b]
Incidencia estacional	Durante todo el año pero tiende a tener un máximo en el otoño	Durante todo el año	Durante todo el año
Vía de infección	De predominio fecal-oral	De predominio parenteral	De predominio parenteral
Presentación de virus			
Sangre	Dos semanas antes a < 1 semana después de la ictericia	Meses a años	Meses a años
Heces	Dos semanas antes a 2 semanas después de la ictericia	Ausente	Probablemente ausente
Orina	Infrecuente	Ausente	Probablemente ausente
Saliva, semen	Infrecuente (saliva)	A menudo presente	Presente (saliva)
Características clínicas y de laboratorio			
Inicio	Súbito	Insidioso	Insidioso
Fiebre > 38 °C	Frecuente	Menos frecuente	Menos frecuente
Duración de elevación de la aminotransferasa	Una a tres semanas	Uno a seis meses	Uno a seis+ meses
Inmunoglobulinas (concentraciones de IgM)	Elevadas	Normal a ligeramente elevadas	Normal a ligeramente elevadas
Complicaciones	Infrecuentes, no hay cronicidad	Cronicidad en 5 a 10% (95% de recién nacidos)	Cronicidad en 70 a 90%
Tasa de mortalidad (casos ictéricos)	< 0.5%	< 1 a 2%	0.5 a 1%
Inmunidad			
Homólogos	Sí	Sí	Probablemente no
Heterólogos	No	No	No
Duración	Probablemente de por vida	Probablemente de por vida	Probablemente de por vida
Inmunoglobulina intramuscular (IG, γ-globulina, ISG)	Previene por lo regular la ictericia	Evita la ictericia sólo si la inmunoglobulina tiene una potencia suficiente contra HVB	Evita la ictericia sólo si la inmunoglobulina es de potencia suficiente contra HCV

HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B; HVB virus de hepatitis B; Ig, inmunoglobulina; IgM, inmunoglobulina M; ISG, concentrado de inmunoglobulina sérica.

[a] La hepatitis no ictérica es frecuente en los niños.

[b] En el grupo de edad de 15 a 29 años, las hepatitis B y C suelen asociarse con toxicomanía, conducta sexual promiscua o exposición a agujas no estériles. Los pacientes infectados por virus de hepatitis B o C después de transfusiones sanguíneas por lo común tienen más de 29 años.

manifiesta por fiebre, exantema y poliartritis; vasculitis necrotisante (poliarteritis nodosa); y glomerulonefritis. Se ha sugerido que los complejos inmunitarios circulantes son causa de estos síndromes. Las enfermedades relacionadas con infecciones crónicas por HCV son la crioglobulinemia mixta y la glomerulonefritis. Las manifestaciones extrahepáticas son poco comunes en las infecciones por HAV.

La hepatitis viral no complicada pocas veces persiste más de 10 semanas sin mejoría. Se presentan recidivas en 5 a 20% de los casos y se manifiestan por anomalías de la función hepática con o sin recidivas de los síntomas.

Cada tipo de hepatitis viral tiene un promedio de incubación diferente (cuadro 35-4). Sin embargo, hay un considerable empalme en el tiempo y el paciente puede no saber cuándo ocurrió la exposición, de manera que el periodo de incubación no es muy útil para determinar la causa viral específica.

La enfermedad por lo común es de inicio súbito en la infección por el HAV (al cabo de 24 h), a diferencia del inicio más insidioso en caso de las infecciones por HBV y HCV. En casi todos los pacientes con hepatitis A hay restablecimiento completo (cuadro 35-5). La enfermedad es más grave en adultos que en niños, en quienes a menudo pasa inadvertida. Las recaídas de infección por HAV pueden presentarse uno a cuatro meses después que se han resuelto los síntomas iniciales.

El pronóstico después de la infección por HBV es variable y fluctúa desde el restablecimiento completo hasta la progresión a hepatitis crónica y, en algunas ocasiones, la muerte por hepatitis fulminante. En los adultos, de 65 a 80% de las infecciones pasan inadvertidas y de 90 a 95% de todos los pacientes se restablecen por completo. En cambio, 80 a 95% de los lactantes y niños pequeños infectados por HBV se vuelven portadores crónicos (cuadro 35-6) y su suero se mantiene positivo para HBsAg. La mayor parte de los individuos con infección crónica por HBV permanecen asintomáticos por muchos años; puede o no haber signos bioquímicos e histológicos de la hepatopatía. Los portadores crónicos tienen un riesgo elevado de desarrollar carcinoma hepatocelular.

La hepatitis fulminante a veces sobreviene durante una hepatitis viral aguda, que se define como una encefalopatía hepática en las primeras 8 h de iniciada la enfermedad en pacientes que no han tenido antes una hepatopatía. Es letal en 70 a 90% de los casos y la supervivencia es infrecuente después de los 40 años de edad. La enfermedad fulminante por HBV se relaciona con la infección por otros microorganismos, incluido HDV. En la mayor parte de los pacientes que sobreviven hay restablecimiento completo del parénquima y función hepáticos. La enfermedad fulminante pocas veces se presenta en las infecciones por el VHA o el VHC.

La hepatitis C suele ser clínicamente leve y sólo se observa un incremento mínimo a moderado de las enzimas hepáticas. La hospitalización es poco común y la ictericia ocurre en menos de 25% de los pacientes. Pese a las manifestaciones leves de la enfermedad, 70 a 90% de los casos presenta hepatopatía crónica. La mayor parte de los pacientes no presenta síntomas, pero la evolución histológica suele revelar signos de hepatitis activa crónica, sobre todo en aquellos cuya enfermedad se adquiere después de una transfusión. Muchos pacientes (20 a 50%) desarrollan cirrosis y están en riesgo elevado de desarrollar carcinoma hepatocelular (5 a 25%) décadas más tarde. Alrededor de 40% de los casos de hepatopatía crónica se relaciona con HCV, lo que resulta en 8 000 a 10 000 muertes anuales en Estados Unidos. La hepatopatía en etapa terminal relacionada con HCV es la indicación más frecuente para los trasplantes hepáticos en el adulto.

CUADRO 35-5 Desenlaces de la infección por el virus de la hepatitis A[a]

Desenlace	Niños	Adultos
Infección no aparente (subclínica) (%)	80 a 95	10 a 25
Enfermedad ictérica (%)	4 a 20	75 a 90
Restablecimiento completo (%)	> 98	> 98
Enfermedad crónica (%)	Ninguna	Ninguna
Tasa de mortalidad (%)	0.1	0.3 a 2.1

[a] Adaptado con autorización de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. En Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.

CUADRO 35-6 Transmisión del virus de la hepatitis B y gama de desenlaces de la infección

	Transmisión[a]		
Característica	Vertical (Asia)	Contacto (África)	Parenteral, sexual
Edad en la que ocurre la infección	Recién nacidos, lactantes	Niños pequeños	Adolescentes, adultos
Restablecimiento tras una infección aguda (%)	5	20	90 a 95
Evolución a la infección crónica (%)	95	80	5 a 10
Portadores crónicos[b] (% de población total)	10 a 20	10 a 20	0.5

[a] Transmisión vertical y relacionada con contactos en regiones endémicas; transmisión parenteral y sexual son los principales mecanismos de transmisión en las regiones no endémicas.

[b] Con riesgo elevado de presentar carcinoma hepatocelular.

Datos de laboratorio

La biopsia hepática permite establecer un diagnóstico histológico de la hepatitis. Las pruebas de función hepática anormales, como la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y la bilirrubina séricas complementan los datos clínicos, anatomopatológicos y epidemiológicos.

A. Hepatitis A

En la figura 35-7 se muestran los eventos clínicos, virológicos y serológicos que ocurren tras la exposición al HAV. Se han detectado partículas virales mediante microscopia electrónica y técnicas inmunológicas en extractos fecales de pacientes con hepatitis A (figura 35-1). El virus aparece en las primeras etapas

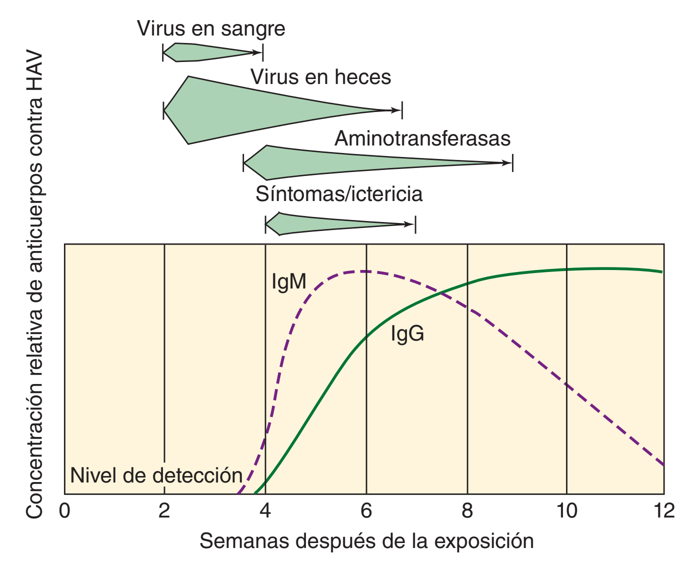


FIGURA 35-7 Fenómenos inmunológicos y biológicos que surgen con la infección de humanos por virus de hepatitis A. IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M. (Con autorización de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. En Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996. Modificado con autorización de Hollinger FB, Dienstag JL: Hepatitis viruses. En *Manual* of Clinical *Microbiology*, 4a. ed. American Society for Microbiology, 1985.)

de la enfermedad y desaparece en las primeras dos semanas luego que comienza la ictericia.

El HAV se detecta en hígado, heces, bilis y sangre de seres humanos con infección natural y en primates no humanos infectados experimentalmente mediante inmunoanálisis, análisis de hibridación de ácido nucléico o PCR. Se detecta HAV en las heces desde casi dos semanas antes del inicio de la ictericia hasta dos semanas después.

Los anticuerpos contra HAV aparecen en la fracción IgM durante la fase aguda, alcanzando un máximo unas dos semanas después de la elevación de las enzimas hepáticas (cuadro 35-7). Los anticuerpos IgM contra HAV por lo general disminuyen a concentraciones no detectables en los primeros tres a seis meses. Los anticuerpos IgG contra HAV aparecen poco después del inicio de la enfermedad y persiste por decenios. Por consiguiente, la detección de anticuerpos IgM específicos contra HAV en la sangre de un paciente con infección aguda confirma el diagnóstico de hepatitis A. El enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) es el método ideal para determinar los anticuerpos contra HAV.

B. Hepatitis B

En la figura 35-8 se ilustran los eventos clínicos y serológicos que ocurren tras la exposición a HBV y se resumen en el cuadro 35-8. La actividad de DNA polimerasa, DNA de HBV y HBeAg, que es representativa de la etapa virémica de la hepatitis B, ocurre en las primeras fases del periodo de incubación, al mismo tiempo o poco después de la aparición inicial de HBsAg. Las concentraciones elevadas de partículas de HBV pueden estar presentes en la sangre (hasta 10^{10} partículas/ml) durante la fase inicial de la infección; la transmisión infecciosa es máxima en esta etapa. El HBsAg suele ser detectable dos a seis semanas antes de los signos clínicos y bioquímicos de hepatitis y persiste durante toda la evolución clínica de la enfermedad. Se cree que la desaparición del HbsAg se asocia con recuperación de la infección, pero algunos pacientes continúan con la infección por HBV oculta, DNA de HBV detectable y todavía pueden transmitir el virus.

A menudo se detectan concentraciones altas de anticuerpos IgM específicos contra HBc al inicio de la enfermedad clínica. Como este anticuerpo se dirige contra el componente central interno de 27 nm del HBV, su presencia en el suero indica replicación viral. Los anticuerpos contra HBsAg se detectan inicialmente en un periodo variable tras la desaparición de HbsAg que se encuentra presente en concentraciones bajas. Antes que desaparezca HBsAg, HBeAg es reemplazado por anticuerpos contra HBe, lo que señala el inicio de la resolución de la enfermedad. Sin embargo, algunos pacientes pueden desarrollar hepatitis crónica negativa a HbeAg con mutantes de HBV precentrales, por lo general en asociación con una mutación de codón de paro en el nucleótido 1896 que resulta en ausencia de producción de HbeAg pero con progresión viral continua.

Por definición, los portadores crónicos de HBV son aquellos en quienes HBsAg persiste por más de seis meses en la presencia de HBeAg o anticuerpos contra HBe. HBsAg puede persistir por años después de la pérdida del HBeAg. A diferencia de los títulos elevados de anticuerpos IgM específicos contra HBc que se observan en la enfermedad aguda, se encuentran títulos bajos de anticuerpos IgM contra HBc en el suero de la mayoría de los portadores crónicos de HBsAg. Por lo común, pequeñas cantidades de DNA de HBV son detectables en el suero mientras haya HbsAg circulante.

Los métodos de detección más útiles son ELISA para antígenos y anticuerpos de HBV y PCR para DNA viral.

CUADRO 35-7 Interpretación de los marcadores serológicos de los virus de hepatitis A, C y D en sujetos con la enfermedad

Resultados de análisis	Interpretación
Positividad para anticuerpos IgM contra HAV	Infección aguda por HAV
Positividad para anticuerpos IgG contra HAV	Infección previa por HAV
Positividad para anticuerpos contra HCV	Infección actual o previa por HCV
Positividad para anticuerpos contra HD, positividad para HBsAg	Infección por HDV
Positividad para anticuerpos contra HD, positividad para anticuerpos IgM contra HBc	Infección concomitante por HDV y HBV
Positividad para anticuerpos contra HD, negatividad para anticuerpos IgM contra HBc	Sobreinfección de infección crónica por HBV con HDV

Abreviaturas: Anti-HAV, anticuerpo contra el virus de hepatitis A; (HAV); anti-HBc, anticuerpo contra el antígeno central de hepatitis B; anti-HCV, anticuerpo contra el virus de hepatitis C (HCV); anti-HD, anticuerpo contra el virus de hepatitis D (HDV); HBcAg, antígeno central de hepatitis B; HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B; HBV, virus de hepatitis B; IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M.

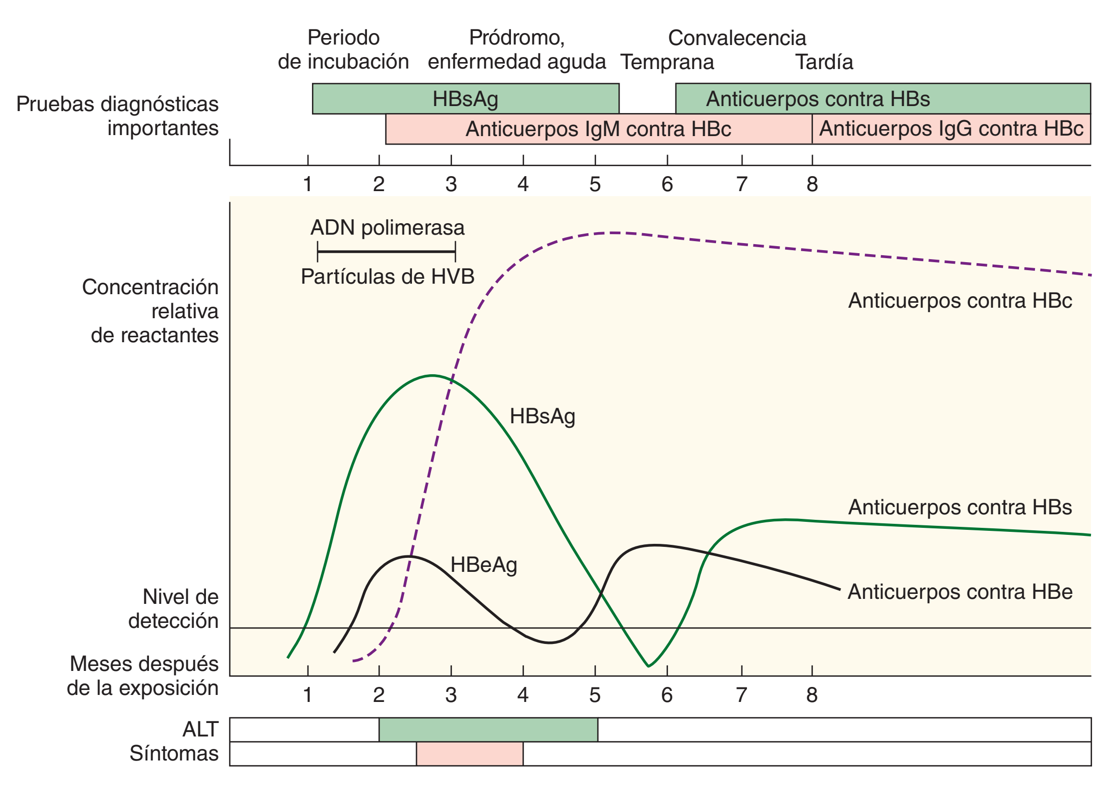


FIGURA 35-8 Fenómenos clínicos y serológicos que se detectan en una persona con infección aguda por virus de hepatitis B. En el cuadro 35-8 se incluyen los estudios diagnósticos más comunes y su interpretación. Abreviaturas: ALT, alaninoaminotransferasa; anti-HBc anticuerpo contra el antígeno central de hepatitis B; anti-HBe, anticuerpo contra el antígeno e de hepatitis B; anti-HBs, anticuerpo contra el antígeno superficial de hepatitis B; HBeAg, antígeno e de hepatitis B; HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B; HBV, virus de hepatitis B; IgG, inmunoglobulina G; IgM; inmunoglobulina M. (Reproducido con autorización de Hollenger FB, Dienstag JL: Hepatitis B and D viruses. En Murray PR [editor]. *Manual of Clinical Microbiology*, 7a. ed. ASM Press, 1999. Washington, DC: ASM Press, 1999. ©1999 American Society for Microbiology. No está permitida la reproducción o distribución sin previo permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

C. Hepatitis C

En la figura 35-9 se muestran las manifestaciones clínicas y serológicas relacionadas con las infecciones por HCV. La mayor parte de las infecciones primarias son asintomáticas o clínicamente leves (20 a 30% presenta ictericia y 10 a 20% sólo presenta síntomas inespecíficos como anorexia, malestar y dolor abdominal). Los análisis serológicos están disponibles para el diagnóstico de la infección por HCV. Los inmunoanálisis enzimáticos detectan anticuerpos contra HCV pero no distinguen entre la infección aguda y la crónica o la que ya se resolvió (cuadro 35-7). Los anticuerpos contra HCV se pueden detectar en el 50 al 70% de los pacientes al inicio de los síntomas,

CUADRO 35-8 Interpretación de los biomarcadores serológicos de HBV en pacientes con hepatitis[a]

Resultados del análisis			
HBsAg	Anticuerpos contra HBsAg	Anticuerpos contra HBs	Interpretación
Positivo	Negativo	Negativo	Infección aguda inicial por HBV. Es necesaria la confirmación para descartar la reactividad específica.
Positivo	(±)	Positivo	Infección por HBV, sea aguda o crónica. Diferenciar con anticuerpos IgM contra HBc. Determinar el grado de actividad de replicación (infectividad) con HBeAg o DNA de HBV.
Negativo	Positivo	Positivo	Indica infección previa por HBV e inmunidad contra la hepatitis B.
Negativo	Negativo	Positivo	Las posibilidades son: infección por HBV en un pasado distante; portador de HBV “de bajo grado”; “ventana” entre la desaparición de HBsAg y la aparición de anticuerpos contra HBs; o reacción falsa positiva o inespecífica. Investigar con anticuerpos IgM contra HBc y DNA de HBV. Cuando están presentes, los anticuerpos contra HBe ayudan a validar la reactividad de anticuerpos contra HBc.
Negativo	Negativo	Negativo	Nunca infectado con HBV. Las posibilidades para daño hepático comprenden otro microorganismo infeccioso, lesión hepática tóxica, trastorno de inmunidad, enfermedad hereditaria del hígado o enfermedad de las vías biliares.
Negativo	Positivo	Negativo	Reacción exitosa a la vacuna para inmunización contra HBV

Abreviaturas: anti-HBc, anticuerpo contra el antígeno central de hepatitis B; anti-HBe, anticuerpo contra el antígeno e de hepatitis B; anti-HBs, anticuerpo contra el antígeno superficial de la hepatitis B (HBsAg); HBeAg, antígeno e de hepatitis B; HBV, virus de hepatitis B; IgM, inmunoglobulina M.

[a] Modificado con autorización de Hollinger FB: Hepatitis B virus. En Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.

apter 35_Carroll_4R.indd 504 15/04/16

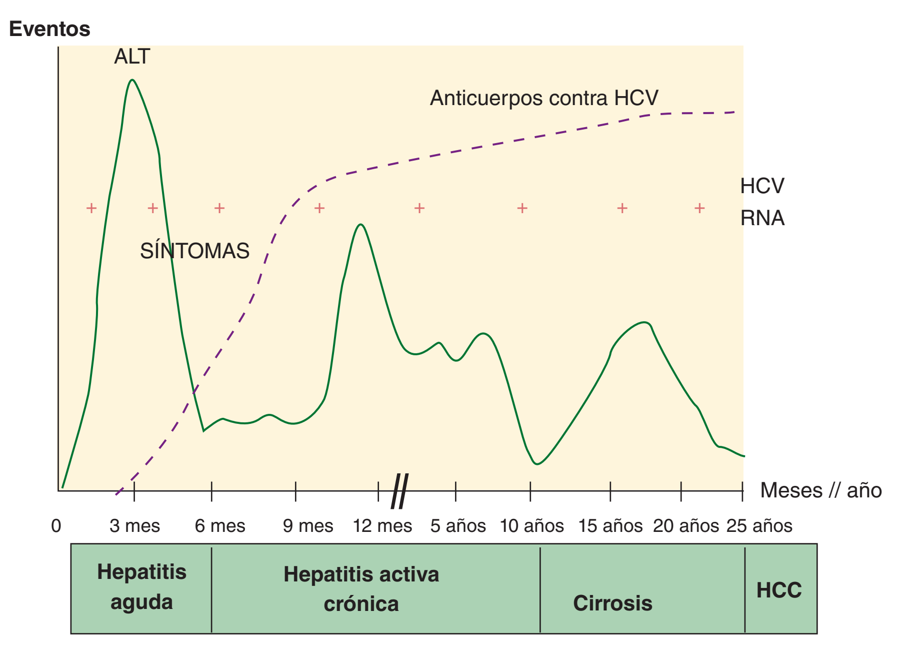


FIGURA 35-9 Fenómenos clínicos y serológicos asociados con la infección de virus de hepatitis C (HCV). ALT, alaninoaminotransferasa; anti-HCV, anticuerpo contra HCV; HCC, carcinoma hepatocelular. (Reproducida con autorización de Garnier L, Inchauspé G, Trépo C: Hepatitis C virus. En Richman DD. Whitley RJ, Hayden FG [editores]. *Clinical Virology*, 2a. ed. ASM Press, 2002. Washington, DC. ©2002 American Society for Microbiology. No está permitida la reproducción o distribución sin previo permiso escrito de la American Society for Microbiology.)

en tanto que en otros la aparición de anticuerpos tarda tres a seis semanas. Los anticuerpos se dirigen contra el centro, la envoltura y las proteínas NS3 y NS4 y tienden a mostrar títulos relativamente bajos. Los análisis a base de ácido nucléico (p. ej., reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa) detectan RNA de HCV en la circulación y son útiles para el diagnóstico de infección aguda poco después de la exposición y para la vigilancia periódica de los pacientes que reciben tratamiento antiviral. Los análisis de ácido nucleico también se utilizan para la genotipificación de cepas de HCV.

D. Hepatitis D

En la figura 35-10 se muestran los patrones serológicos tras la infección por HDV, los cuales se enumeran en el cuadro 35-7. Como HDV depende de una infección concomitante por HBV, la infección aguda de tipo D se presenta como infección simultánea (infección concomitante) por HBV o como una sobreinfección en una persona con infección crónica por HBV. En el patrón de infección concomitante, se forman anticuerpos contra HDAg al final de la fase aguda de la infección y puede tener un título bajo. Son preferibles los análisis de HDAg o de RNA de HDV en el suero o para anticuerpos IgM específicos contra HDV. Todos los biomarcadores de la replicación de HDV desaparecen durante la convalecencia; incluso los anticuerpos contra el HDV pueden desaparecer al cabo de meses a años. Sin embargo, la superinfección por HDV suele ocasionar una infección persistente por HDV (más de 70% de los casos). Las altas concentraciones de anticuerpos IgM e IgG contra HD persisten, lo mismo que las concentraciones de RNA de HDV y HDAg. Las sobreinfecciones por HDV pueden asociarse con una hepatitis fulminante.

Interacciones de virus y hospedador

Hoy en día hay datos indicativos de que existen cinco virus de la hepatitis: tipos A, B, C, D y E. Se considera que una sola infección con cualquiera de ellos confiere una protección homóloga pero no heteróloga contra la recidiva de la infección. Una posible excepción es HCV, en la que puede ocurrir la reinfección.

La mayor parte de los casos de hepatitis de tipo A al parecer se presenta sin ictericia durante la infancia y hacia la edad adulta tardía hay una resistencia generalizada a la reinfección. Sin embargo, estudios serológicos realizados en Estados Unidos y en varios países asiáticos indican que la incidencia de la infección ha disminuido como resultado de mejoras en las condiciones sanitarias así como un aumento en el nivel de vida, junto con un uso más generalizado de la vacuna en algunos países. Se calcula que de 60 a 90% de los adultos jóvenes de ingresos medianos a altos en Estados Unidos son susceptibles a la hepatitis de tipo A.

La infección por HBV de un subtipo específico, por ejemplo, HBsAg/*adw*, parece conferir inmunidad contra otros subtipos de HBsAg, tal vez por su especificidad de grupo *a* común. Los mecanismos inmunopatógenos que producen la persistencia viral y la lesión hepatocelular en la hepatitis de tipo B aún no se han dilucidado. Puesto que el virus no es citopático, se piensa que la lesión hepatocelular durante la enfermedad aguda representa un ataque inmunitario del hospedador contra los hepatocitos infectados por HBV.

Se ha propuesto que las respuestas del hospedador, tanto inmunitarias como genéticas, contribuyen a la frecuencia de la cronicidad de HBV en pacientes infectados durante la lactancia. Casi 95% de los recién nacidos infectados al nacer se vuelven portadores crónicos del virus, a menudo de por vida

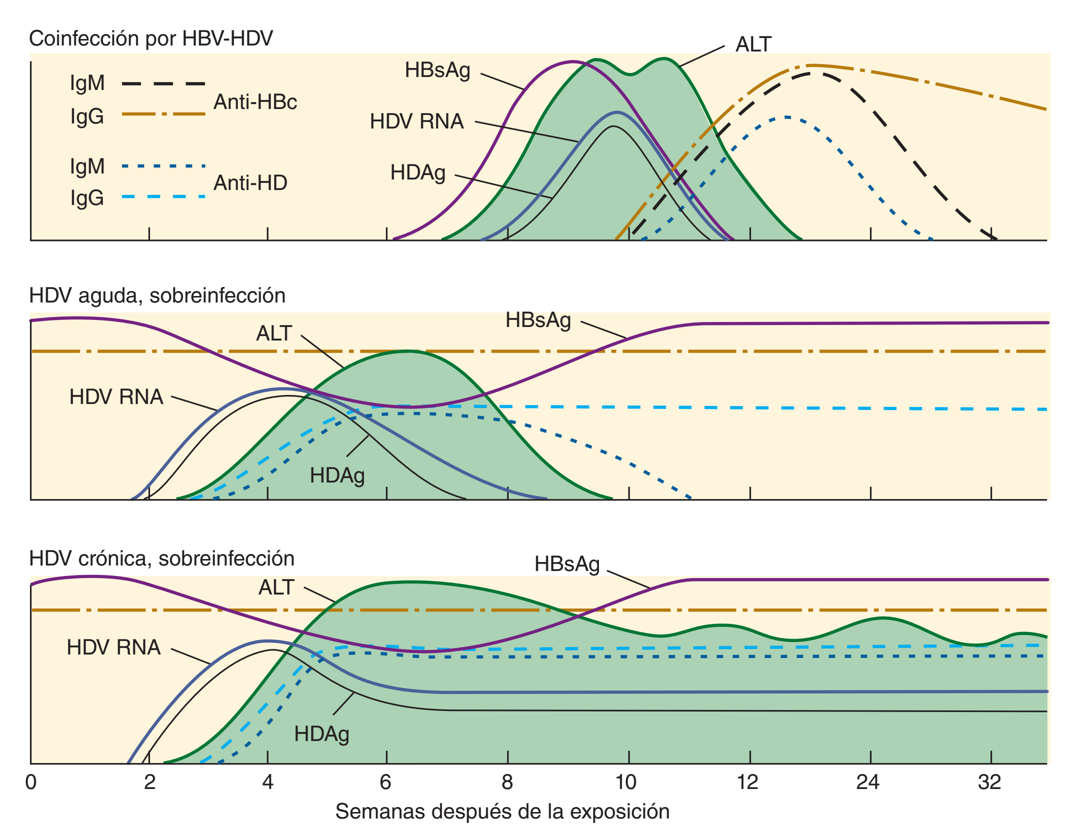


FIGURA 35-10 Patrones serológicos de la hepatitis de tipo D tras la infección concomitante o sobreinfección de una persona con una infección por HBV. **Arriba:** Hepatitis B y hepatitis D agudas concomitantes. **Centro:** La hepatitis D aguda está superpuesta a una infección crónica por el virus de la hepatitis B. **Abajo:** Hepatitis D aguda que evoluciona a la hepatitis crónica, superpuesta a una infección crónica por el virus de la hepatitis B. Abreviaturas: ALT, alaninaaminotransferasa; anti-HBc anticuerpo contra el antígeno central de hepatitis B; anti-HD, anticuerpo contra el antígeno delta; HBsAg, antígeno superficial de hepatitis B; HDAg, antígeno delta; HDV, virus de hepatitis D; IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M. (Con autorización de Purcell RH *et al.*: Hepatitis. En Schmidt NJ. Emmons RW [editors]. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydia Infections,* 6a. ed. American Public Health Association, 1989.)

(cuadro 35-6). Este riesgo disminuye en forma constante con el tiempo, de manera que el riesgo de que adultos infectados se vuelvan portadores disminuye a 10%. Es muy posible que el carcinoma hepatocelular se presente en adultos que experimentan infección por HBV en una edad muy temprana y se vuelven portadores. Por lo tanto, para que la vacunación tenga una eficacia máxima contra el estado de portador, la cirrosis y el hepatoma, se debe llevar a cabo en la primera semana de vida.

Los genotipos de HCV 1-4 son los tipos predominantes que circulan en los países occidentales y manifiestan algunas características diferenciales. El genotipo 1 predomina en Norteamérica, Japón y Europa occidental. Muestra la respuesta más deficiente al tratamiento con interferón y puede tener un efecto más nocivo sobre la evolución del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) de tipo 1 que otros genotipos de HCV. En cambio, el HCV de genotipo 2 responde mejor a los tratamientos a base de interferón. El genotipo 3 muestra la tasa más elevada de eliminación espontánea, en tanto que el genotipo 4 al parecer tiene la máxima frecuencia de los que producen infección crónica después de la infección aguda.

Se sabe poco sobre las respuestas inmunitarias del hospedador a HCV. La mayor parte de las infecciones agudas son asintomáticas o leves y las infecciones crónicas suelen evolucionar con lentitud y de manera insidiosa. Al parecer la respuesta inmunitaria es lenta en desarrollarse y relativamente débil, lo que refleja el hecho de que HCV tiene mecanismos de evasión inmunitaria muy eficaces.

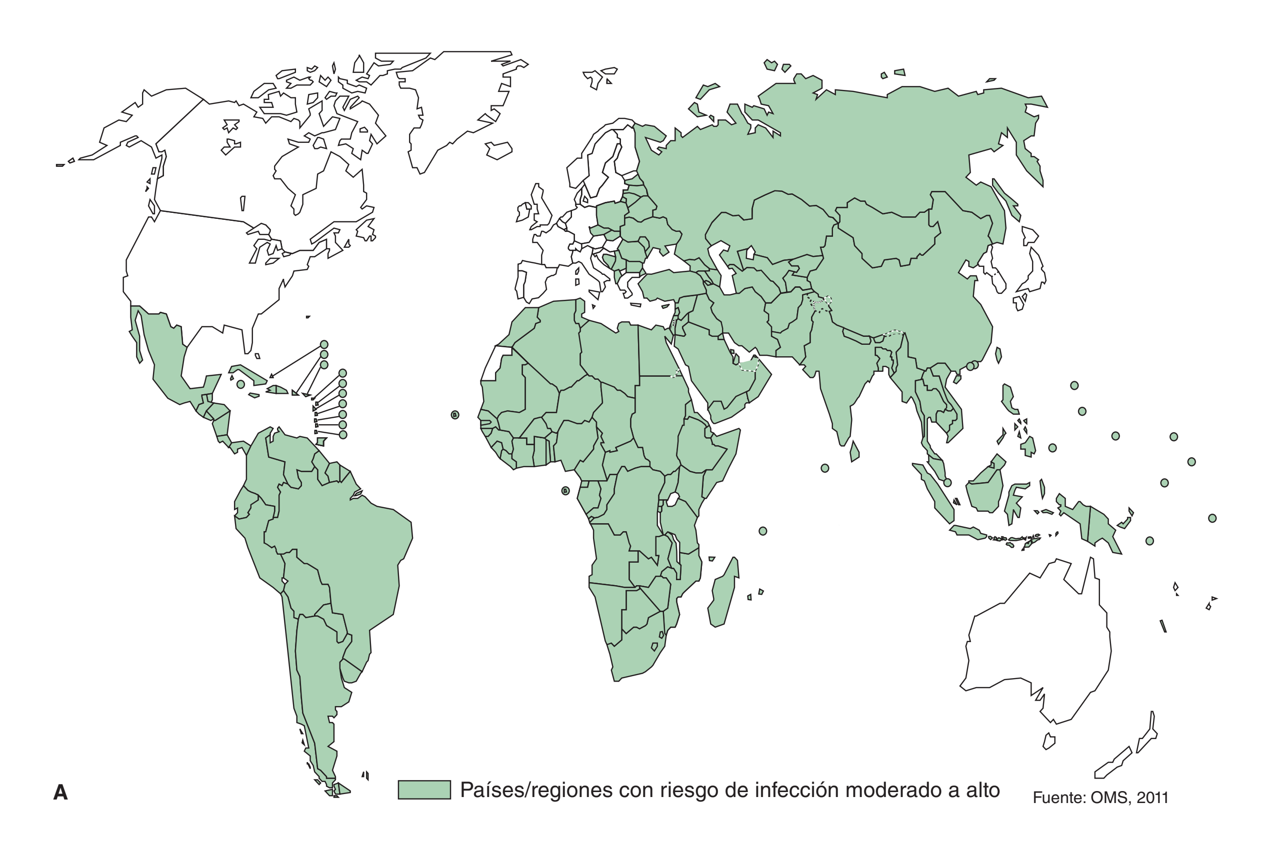
Epidemiología

La figura 35-11 muestra las distribuciones globales de las infecciones por hepatitis A, B y C. Hay diferencias notables en las características epidemiológicas de estas infecciones (cuadro 35-4).

En la actualidad, en Estados Unidos el riesgo de que estos virus se transmitan por transfusión está muy reducido y es resultado de la mejoría en las pruebas de detección sistemática, incluyendo ácidos nucléicos, y del establecimiento de poblaciones de donadores voluntarios. En 2012 se calculó que el riesgo de transmisión de HBV por transfusión sanguínea era de 1 en 1.7 millones y de 1 en 6 a 7 millones de transfusiones en el caso de la HCV.

A. Hepatitis A

El HAV prevalece en todo el mundo. Los brotes epidémicos de hepatitis A son comunes en familias e instituciones, campamentos de verano, guarderías, unidades de cuidados intensivos neonatales y en tropas militares. El mecanismo de transmisión más probable en estas condiciones es la vía fecal-oral a través



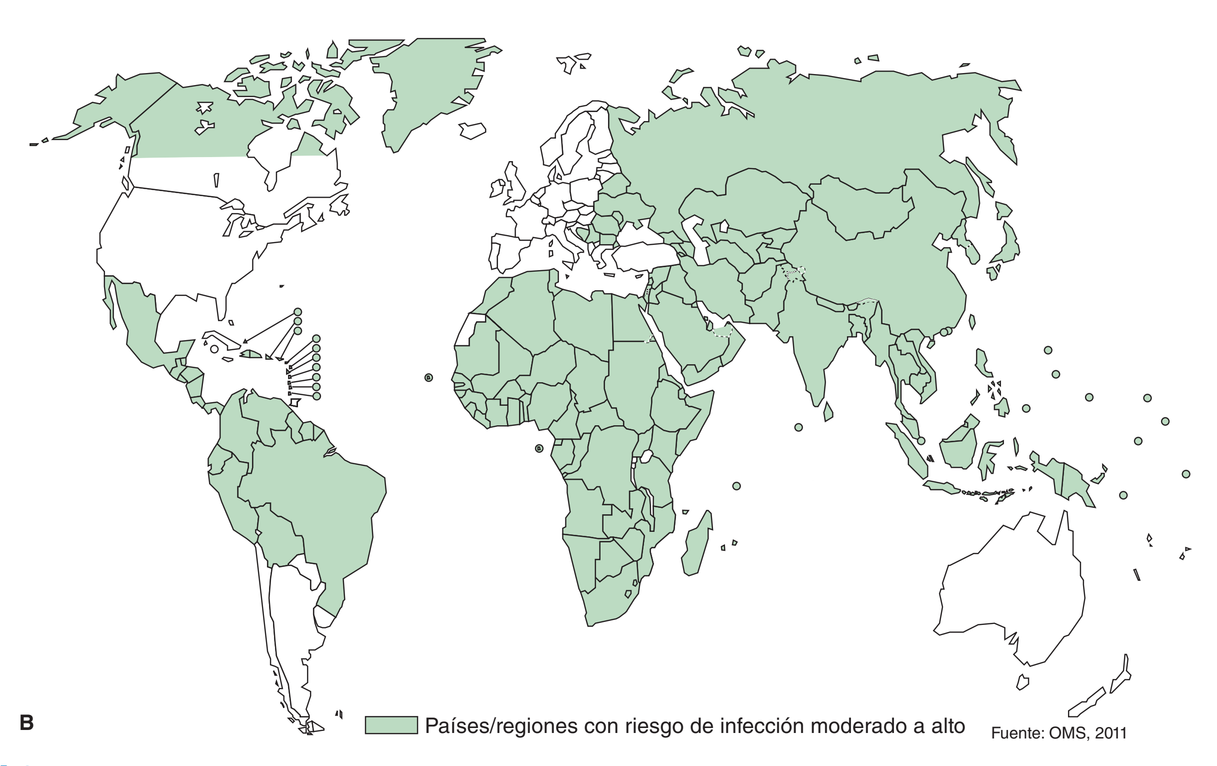


FIGURA 35-11 Distribución global de los virus de hepatitis que ocasionan enfermedad en humanos. **A:** Virus de hepatitis A; **B:** virus de hepatitis B. **C:** Virus de hepatitis C. (Con autorización de la Organización Mundial de la Salud, 2001.)

del contacto cercano persona a persona. Las muestras de heces pueden ser contagiosas desde dos semanas antes hasta dos semanas después del inicio de la ictericia.

En condiciones sanitarias deficientes y de hacinamiento las infecciones por el HAV se presentan en una edad temprana; en estas circunstancias la mayoría de los niños se vuelve inmune hacia los 10 años de edad. La enfermedad clínica es poco común en lactantes y niños; la enfermedad se manifiesta muy a menudo en niños y en adolescentes y las tasas más elevadas ocurren entre los cinco y 14 años de edad. La proporción

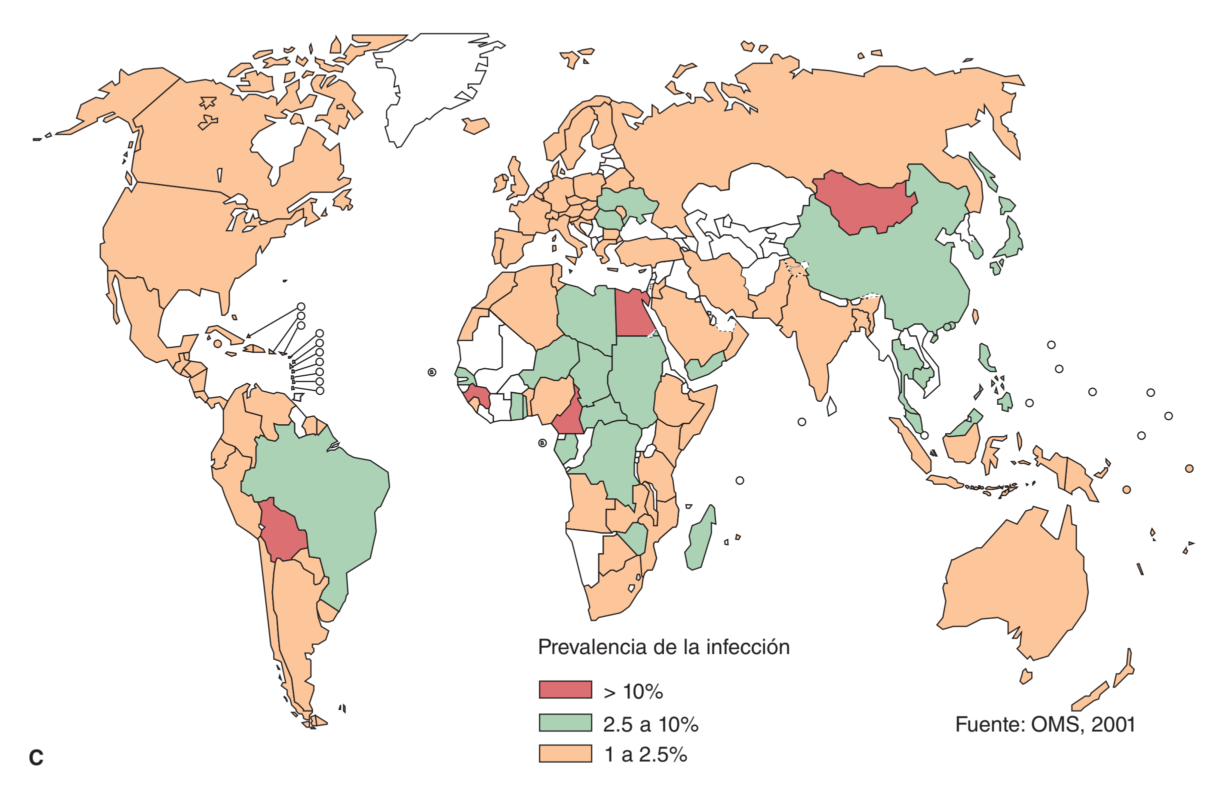


FIGURA 35-11 (*Continuación*)

de casos anictéricos a ictéricos en los adultos es de casi 1:3; en los niños, puede ser de hasta 12:1. Sin embargo, la excreción fecal del antígeno y ARN del HAV persiste por más tiempo en jóvenes que en adultos.

La epidemia recidivante es una característica sobresaliente. Las epidemias explosivas súbitas de hepatitis de tipo A por lo general se deben a la contaminación fecal de una sola fuente (p. ej., agua potable, alimento o leche). El consumo de ostiones crudos o de almejas cocidas en forma inapropiada y obtenidas de agua contaminada con residuos también ha producido varios brotes epidémicos de hepatitis A. El brote más extenso de este tipo ocurrió en Shanghai en 1988, cuando más de 300 000 casos de hepatitis A se atribuyeron a almejas no cocidas procedentes de aguas contaminadas. En Estados Unidos, en 1997 el origen de un brote epidémico transmitido por los alimentos en múltiples estados fue detectado en fresas congeladas.

Otras fuentes identificadas de infección potencial son los primates no humanos. Ha habido más de 35 brotes epidémicos en los cuales los primates, por lo general chimpancés, han infectado a seres humanos que tienen contacto estrecho con estos animales.

El HAV pocas veces es transmitido por el empleo de agujas y jeringas contaminadas o a través de la administración de sangre. La hepatitis A asociada con transfusiones es poco común porque la etapa virémica de la infección ocurre durante la fase prodrómica y tiene una duración breve, los títulos de anticuerpos del virus en sangre son bajos y no hay un estado de portador. Sin embargo, en un informe de 1996 se documentó la transmisión de HAV a hemofílicos a través de concentraciones de factores de la coagulación. Hay pruebas escasas de la transmisión del HAV por la exposición a la orina o a las secreciones nasofaríngeas de pacientes infectados. La hemodiálisis no es importante en la diseminación de las infecciones por hepatitis A en los pacientes o en el personal.

En Estados Unidos, en la época previa a la vacuna, se presentaban alrededor de 271 000 infecciones por año. Desde el advenimiento de las vacunas de la hepatitis A, las tasas de infección disminuyeron de manera espectacular a 2 700 casos en 2011.

Los grupos que tienen más riesgo de adquirir hepatitis A son personas de países desarrollados que viajan a países en vías de desarrollo, varones que tienen sexo con otros varones, usuarios de drogas inyectables y no inyectables, individuos con trastornos de los factores de la coagulación y personal que trabaja con primates no humanos. Los pacientes con hepatopatía crónica tienen mayor riesgo de hepatitis fulminante si contraen una infección por hepatitis A. A estos grupos se les debe vacunar.

B. Hepatitis B

El HBV tiene una distribución mundial. Los mecanismos de transmisión y la respuesta a la infección son variables y dependen de la edad en que ocurre la infección (cuadro 35-6). La mayoría de las personas infectadas durante la lactancia presenta infecciones crónicas. En la edad adulta son susceptibles a enfermedades hepáticas y tienen un alto riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular. Hay más de 350 millones de portadores, de los cuales casi un millón vive en Estados Unidos; 25% de los portadores desarrolla hepatitis crónica activa. En todo el mundo, 600 000 muertes al año se atribuyen a la hepatopatía relacionada con HBV y al carcinoma hepatocelular.

En personas infectadas con VIH, a menudo se añaden infecciones por HBV, y su prevalencia fue de 36% en 2008 en Estados Unidos.

Los principales mecanismos de transmisión de HBV durante la lactancia son de una madre infectada a su recién nacido durante el parto y de un contacto doméstico infectado a un lactante.

No hay una tendencia estacional para la infección por HBV ni una predilección elevada para cualquier grupo de edad, aunque hay grupos de alto riesgo definidos como los usuarios de drogas parenterales, las personas internadas en centros sanitarios, personal sanitario, los pacientes que reciben múltiples transfusiones, los que reciben trasplantes de órganos, los enfermos en hemodiálisis y quienes los atienden, individuos con múltiples parejas sexuales y lactantes recién nacidos de madres con hepatitis B. La identificación sistemática obligatoria de los donadores de sangre por marcadores de infección de HBV (HbsAg, HBc Ab y DNA de HBV) ha reducido sobremanera la cifra de casos de hepatitis asociada a transfusión. Las personas se han infectado por jeringas, agujas o bisturíes esterilizados en forma inadecuada o incluso por tatuajes o la perforación de las orejas.

Existen otros mecanismos de transmisión de la hepatitis B. Se puede detectar HBsAg en saliva, lavados nasofaríngeos, semen, líquido menstrual y secreciones vaginales, lo mismo que en la sangre. La transmisión de portadores a contactos estrechos ocurre por vía oral o por exposición sexual u otro contacto íntimo. Hay pruebas sólidas de la transmisión de personas con casos leves y portadores de HBsAg a parejas de homosexuales y heterosexuales a largo plazo. No se ha documentado la transmisión por la vía fecal-oral. Si se toma en cuenta que puede haber más de 1 000 millones de viriones por mililitro de sangre en un portador positivo para HBeAg y que el virus es resistente al desecamiento, no es de sorprender que todos los líquidos corporales de los pacientes infectados por el VHB puedan ser contagiosos. Las infecciones subclínicas son frecuentes y estas infecciones no reconocidas representan el riesgo principal para el personal sanitario.

El personal sanitario (médicos y cirujanos dentales, patólogos, otros médicos, enfermeras, técnicos de laboratorio y personal de banco de sangre) tienen una incidencia más elevada de hepatitis y una mayor prevalencia detectable de HBsAg o anticuerpos contra HBs que los que no tienen exposición laboral a los pacientes o a los hemoderivados. El riesgo que estos portadores de HBsAg aparentemente sanos (sobre todo médicos y cirujanos dentales) representan a los pacientes bajo su cuidado aún no se ha determinado pero probablemente es pequeño.

Las infecciones por hepatitis B son frecuentes en pacientes y personal de las unidades de hemodiálisis. Hasta 50% de los pacientes en diálisis renal que tienen contacto con hepatitis B puede volverse portador crónico de HBsAg en comparación con 2% del grupo de personal, lo que resalta las diferencias en la respuesta inmunitaria del hospedador. Los contactos familiares también tienen un riesgo más elevado.

El periodo de incubación de la hepatitis B es de 50 a 180 días con una media de 60 a 90 días. Al parecer varía según la dosis de HBV administrada y la vía de administración, prolongándose en los pacientes que reciben una dosis baja del virus o que son infectados por una vía no percutánea.

C. Hepatitis C

Las infecciones por HCV se propagan por todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud estimó que casi 3% de la población mundial se había infectado y los subgrupos de población en África tenían tasas de prevalencia de hasta 10%. En Sudamérica y en Asia se encuentran otras zonas de gran prevalencia. Se estima que hay más de 170 millones de portadores crónicos en todo el mundo que corren el riesgo de presentar cirrosis hepática, cáncer hepático, o ambos y que más de tres millones de ellos viven en Estados Unidos.

El HCV se transmite principalmente a través de la exposición percutánea directa a la sangre, aunque en 10 a 50% de los casos no se puede identificar la fuente de este virus. En orden de prevalencia de la infección más o menos decreciente están los usuarios de drogas inyectables (alrededor de 80%), los hemofílicos tratados con productos de factores de la coagulación antes de 1987, los receptores de transfusiones de donadores positivos para HCV, los pacientes en hemodiálisis crónica (10%), las personas que tienen prácticas sexuales de alto riesgo y el personal sanitario (1%). El virus se puede transmitir de la madre al lactante, aunque no con la misma frecuencia que el HBV. Las estimaciones de la transmisión vertical materno-infantil varían de 3 a 10%. Las madres con densidades virales de HCV más altas o infección concomitante con HIV transmiten más a menudo el HCV. No se ha relacionado el riesgo de transmisión con la lactancia natural.

El HCV se detectó en la saliva de más de un tercio de pacientes con infecciones concomitantes por HCV y HIV; se ha transmitido a través de preparados comerciales de inmunoglobulina intravenosa, incluido un brote epidémico en Estados Unidos que ocurrió en 1994. La población de Egipto tiene una prevalencia de HCV elevada (alrededor de 20%). La transmisión se ha vinculado al intento (de la década de los 50 a la de los 80) de tratar la esquistosomiasis mediante múltiples inyecciones, a menudo con agujas esterilizadas de forma inadecuada o reutilizadas. La infección por HCV se asocia con tatuajes y, en algunos países, con las prácticas de la medicina popular. Un donador positivo a HCV puede transmitir el HCV a un receptor de trasplante de órgano.

El periodo de incubación promedio para HCV es de seis a siete semanas. El tiempo promedio desde la exposición hasta la seroconversión es de ocho a nueve semanas y casi 90% de los pacientes son positivos para anticuerpos contra HCV en los primeros cinco meses.

D. Hepatitis D (virus delta)

El virus de la hepatitis D (HDV) se encuentra en todo el mundo pero con una distribución no uniforme. Su máxima prevalencia se ha comunicado en Italia, Medio Oriente, Asia Central, África Occidental y Sudamérica. El HDV infecta a todos los grupos de edad. Las personas que han recibido múltiples transfusiones, los toxicómanos de drogas intravenosas y sus contactos estrechos tienen un riesgo elevado.

Se considera que las vías primarias de transmisión son similares a las del HBV, aunque el HDV no parece ser una enfermedad de transmisión sexual. La infección depende de la replicación del HBV, pues éste proporciona una envoltura de HBsAg para HDV. El periodo de incubación varía de dos a 12 semanas y es más breve en portadores de HBV que presentan

sobreinfección con la partícula delta que en personas susceptibles que se infectan en forma simultánea con HBV y HDV. Se ha transmitido HDV por vía perinatal, pero por suerte no es frecuente en regiones del mundo (como Asia) en las que la transmisión perinatal del HBV ocurre con frecuencia.

Se han identificado dos patrones epidemiológicos de infección delta. En los países mediterráneos, la infección delta es endémica en personas con hepatitis B y se piensa que la mayor parte de las infecciones son transmitidas por contacto sexual. En zonas no endémicas, como Estados Unidos y Europa del norte, la infección por delta se limita a las personas expuestas con frecuencia a la sangre y a hemoderivados, principalmente toxicómanos e individuos con hemofilia.

La hepatitis delta puede presentarse en brotes epidémicos explosivos, y afecta a grupos enteros de portadores de hepatitis B. Los brotes epidémicos de hepatitis delta grave, a menudo fulminante y crónica han ocurrido por decenios en poblaciones aisladas en las cuencas del Orinoco y el Amazonas en Sudamérica. En Estados Unidos, se ha observado que el HDV participa en 20 a 30% de los casos de hepatitis B crónica, exacerbaciones agudas de hepatitis B crónica y hepatitis B fulminante, así como en 3 a 12% de donadores de sangre con HBsAg en el suero tienen anticuerpos contra el HDV. La hepatitis delta no es una enfermedad nueva porque algunos lotes de globulina preparados a partir del plasma obtenidos en Estados Unidos hace más de 40 años ya contenían anticuerpos contra HDV.

Tratamiento

El tratamiento de pacientes con hepatitis A, D y E es complementario y está encaminado a permitir que el daño hepatocelular se autolimite. Tanto HBV como HCV tienen tratamientos específicos; algunos pacientes alcanzan depuración viral, conocida como respuesta virológica sostenida (véase cuadro 30-7).

A. Tratamiento de la hepatitis B

En pacientes con hepatitis crónica activa se recomienda el tratamiento de la infección por HBV para evitar progresión de fibrosis hepática y desarrollo de carcinoma hepatocelular. El interferón alfa-2a pegilado, entecavir, y enofovir son la primera línea de tratamiento para la hepatitis B. Las pruebas de resistencia pueden indicar mutaciones virales específicas que influyen sobre la elección terapéutica. El tratamiento con interferón puede llevar a tasa de pérdida de DNA de HBV de aproximadamente 25%. El entecavir es un inhibidor de análogo de la guanosina de polimerasa de HBV, cuyo uso terapéutico lleva a 67% de DNA de HBV no detectable en pacientes positivos a HbeAg y 90% de DNA de HBV no detectable en pacientes negativos a HbeAg. El tenofovir es un inhibidor de análogo nucleotídico de la transcriptasa inversa y polimerasa de HBV, con tasas de respuesta de 76 y 93% en pacientes positivos a HbeAg y negativos a HbeAg, respectivamente. A los cinco años de tratamiento, dichas tasas disminuyeron a 83 y 65%, respectivamente.

La telbivudina es un análogo nucleosídico de citosina considerado segunda línea de tratamiento e inhibidor de la polimerasa de DNA del HBV. La lamivudina, también llamada 3TC, y el adefovir son análogos nucleosídicos inhibidores de la polimerasa viral considerados como tercera línea de tratamiento. Se está realizando un progreso continuo en el tratamiento de HBV y se espera que pronto sean aprobados y estén disponibles fármacos adicionales. Para pacientes coinfectados por HIV y HBV, los fármacos deben escogerse simultáneamente para dirigirlos a los dos patógenos.

B. Tratamiento de hepatitis C

El interferón pegilado en combinación con ribavirina ha sido el tratamiento estándar en la hepatitis C crónica. La probabilidad de que los pacientes alcancen respuesta virológica sostenida depende de varios factores, incluida su edad, carga viral, grado de fibrosis hepática, genotipo HCV y su polimorfismo receptor IL28B. Los marcadores genéticos de pronóstico deficiente son el genotipo 1 de HCV y el polimorfismo TT de seres humanos en IL28B a rs12979860. El tratamiento antiviral se da 24 o 48 semanas, en función del genotipo viral, con interrupción del tratamiento si es improbable que se alcance la respuesta virológica sostenida. Este tratamiento clásico lleva a respuesta virológica sostenida en 30 a 35% de pacientes con genotipo 1 de HCV y 75 a 80% de pacientes con genotipo 2 o 3.

Las mejorías principales en el tratamiento de HCV se han obtenido con fármacos inhibidores de la proteasa de primera generación telaprevir y boceprevir. Se dirigen a la proteasa viral, que rompe el polipéptido viral traducido en proteínas funcionales. Se administran para infecciones del genotipo 1 de HCV en combinacion con interferón y ribavirina, y mostraron alrededor de 60 a 80% de tasas de respuesta virológica sostenida, incluso en pacientes en quienes fracasó el tratamiento previo. Sin embargo, tales fármacos son por completo tóxicos y debe tomarse en cuenta la resistencia viral seleccionada.

Los antivirales para HCV de segunda generación recientemente se aprobaron para uso a partir de ensayos clínicos que muestran más de 90% de respuesta virológica sostenida. El sofosbuvir es un inhibidor de la polimerasa de RNA viral de HCV análogo nucleotídico y el simepravir es un inhibidor de la proteasa de HCV. Tales fármacos tienen menos toxicidad que los antivirales de primera generación y una eficacia mayor. Están en curso estudios para determinar el efecto de mutaciones virales específicas sobre la eficacia del fármaco. Los regimenes de tratamiento sin interferón en la actualidad están bajo valoración para reducir la toxicidad completa del tratamiento y se espera que pronto estén disponibles.

El trasplante hepático ortotópico es un tratamiento para el daño hepático de etapa terminal de la hepatitis B y C crónica. Sin embargo, el riesgo de reinfección en el injerto es de al menos 80% con HBV y de 50% con HCV, tal vez por reservorios extrahepáticos en el cuerpo. Debido a que los hígados donadores están en dicho suministro corto, los hígados positivos a HBV o HCV pueden trasplantarse a receptores seropositivos con enfermedad hepática terminal.

Prevención y control

Se dispone de vacunas antivirales y de preparados de inmunoglobulina protectora contra el HAV y el HBV. Actualmente no se encuentra disponible ningún tipo de reactivo para prevenir las infecciones por HCV.

A. Precauciones utilizadas con frecuencia

Los procedimientos ambientales simples permiten limitar el riesgo de la infección en el personal sanitario, el de laboratorio

y otros más. De acuerdo con este enfoque, toda la sangre y los líquidos corporales y materiales contaminados por ellos se tratan como si fueran infecciosos para HIV, HBV, HCV y otros microorganismos patógenos transmitidos en la sangre. Las exposiciones que hacen que el personal corra el riesgo de infección son las lesiones percutáneas (p. ej., por punciones con aguja) o el contacto de membranas mucosas o la piel no intacta (p. ej., agrietada, con heridas o con dermatitis) con sangre, tejido u otros líquidos corporales que pueden ser potencialmente infecciosos. Los métodos están concebidos para prevenir el contacto con tales muestras. Ejemplos de precauciones específicas son los siguientes: se deben utilizar guantes al manejar todos los materiales potencialmente infecciosos; se deben usar prendas protectoras y retirarlas antes de abandonar la zona de trabajo; se deben usar mascarillas y protección ocular siempre que las salpicaduras o gotitas de material infeccioso planteen un riesgo; sólo se deben utilizar agujas desechables; es necesario descartar las agujas directamente en recipientes especiales sin envolverlas de nuevo; las superficies de trabajo deben descontaminarse utilizando una solución blanqueadora; y el personal de laboratorio ha de contenerse de pipetear con la boca, comer, beber y fumar en el área de trabajo. Los objetos e instrumentos metálicos se pueden desinfectar mediante su colocación en autoclave o por la exposición al gas de óxido de etileno.

B. Hepatitis A

En 1995 se autorizaron en Estados Unidos las vacunas del HAV inactivadas en formalina, elaboradas a partir de virus adaptados de cultivos celulares. Las vacunas son seguras, eficaces y se recomiendan para uso en personas de más de un año de edad.

En la actualidad se recomienda la vacunación sistemática de todos los niños y de personas con un mayor riesgo, como viajeros internacionales, varones que tienen sexo con varones y usuarios de drogas.

Hasta que todos los grupos con riesgo susceptibles estén inmunizados, para la prevención y el control de la hepatitis A todavía se debe hacer hincapié en interrumpir la cadena de transmisión y utilizar la inmunización pasiva.

La aparición de la hepatitis en campos universitarios o instituciones, a menudo constituye un indicador de condiciones sanitarias deficientes y de higiene insatisfactoria del personal. Las medidas de control se dirigen a la prevención de la contaminación fecal del alimento, agua u otras fuentes por el individuo. Es esencial la higiene adecuada, como lavado de manos, el uso de platos desechables y de utensilios para comer, así como el empleo de hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., dilución de blanqueador de cloro a 1:10) como desinfectante, para prevenir la propagación del HAV durante la fase aguda de la enfermedad.

La inmuno (γ) globulina (IG) se prepara a partir de grandes concentrados de plasma de adulto normal y confiere una protección pasiva en casi 90% de las personas expuestas cuando la reciben en la primera o segunda semanas después de la exposición a la hepatitis A. Su utilidad profiláctica disminuye con el tiempo y no hay indicaciones para su administración dos semanas después de la exposición o después de la aparición de los síntomas clínicos. En las dosis generalmente prescritas, la inmunoglobulina no evita la infección sino más bien la vuelve leve o subclínica y permite la aparición de inmunidad activa. La vacuna contra HAV produce inmunidad más duradera y debe reemplazar al empleo de IG.

C. Hepatitis B

Desde 1982 se dispone de una vacuna contra la hepatitis B. La vacuna inicial fue preparada mediante la purificación de HBsAg asociado a partículas de 22 nm de portadores sanos positivos para HBsAg y el tratamiento de las partículas con compuestos inactivadores del virus (formalina, urea, calor). Los preparados que contienen partículas intactas de 22 nm han sido muy eficaces para reducir la infección por HBV. Aunque en algunos países todavía se utilizan las vacunas derivadas de plasma, en Estados Unidos se han reemplazado por vacunas derivadas de DNA recombinante; consisten en HBsAg producido por un DNA recombinante de células de levadura o de líneas celulares continuas de mamíferos. El HBsAg expresado en la levadura forma partículas de 15 a 30 nm de diámetro con las características morfológicas del antígeno de superficie libre en el plasma, aunque el antígeno polipeptídico producido por la levadura recombinante no es glucosilado. La vacuna formulada utilizando este material purificado tiene una potencia similar a la de la vacuna elaborada a partir de antígeno derivado de plasma.

La Organización Mundial de la Salud, los *Centers for Disease Control and Prevention* y el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomiendan la profilaxis para todos los grupos susceptibles con alto riesgo antes de la exposición, con una vacuna contra la hepatitis B comercializada actualmente. En Estados Unidos, se recomienda la vacuna contra HBV en todos los niños como parte de su esquema de inmunización regular.

La vacunación contra la hepatitis B es la medida más eficaz para prevenir la infección por el HVB y sus consecuencias. Existe una estrategia de salud pública integral para eliminar la transmisión del HVB en Estados Unidos. Consiste en la vacunación general de lactantes y la detección sistemática de todas las mujeres embarazadas para HBsAg, la inmunoprofilaxis después de la exposición de lactantes nacidos de madres positivas para HBsAg, la vacunación de niños y adolescentes no vacunados con anterioridad y la vacunación de adultos no vacunados que tienen un mayor riesgo de infección.

Los grupos inmunocomprometidos (p. ej., personas sometidas a hemodiálisis y quienes reciben quimioterapia antineoplásica o que tienen infección por HIV), no responden tan satisfactoriamente a la vacunación como lo hacen los sujetos sanos.

Los estudios sobre inmunización pasiva utilizando inmunoglobulina específica de la hepatitis B (HBIG, *hepatitis B immune globulin por sus siglas en inglés*) han demostrado un efecto protector si se administra poco después de la exposición. No se recomienda HBIG para la profilaxis antes de la exposición pues se dispone de la vacuna contra el HVB y es eficaz. Las personas expuestas al HVB por vía percutánea o por la contaminación de superficies de la mucosa deben recibir de inmediato HBIG y la vacuna contra HBsAg administradas de manera simultánea en dos zonas diferentes para lograr una protección inmediata con los anticuerpos adquiridos en forma pasiva seguida de la inmunidad activa generada por la vacuna.

En Estados Unidos no se ha documentado que la inmunoglobulina aislada del plasma mediante el método de fraccionamiento de etanol en frío transmita HBV, HAV, HCV o HIV. Las inmunoglobulinas preparadas fuera de Estados Unidos por otros métodos han sido implicadas en los brotes epidémicos de hepatitis B y C.

Las mujeres que son portadoras del HBV o que contraen la hepatitis de tipo B durante el embarazo pueden transmitir la enfermedad a sus lactantes. Se ha corroborado la eficacia de la vacuna contra la hepatitis y de HBIG en la prevención de la hepatitis B en lactantes nacidos de madres positivas para HBV. La reducción del costo de la vacuna para los programas de salud pública ha vuelto factible la vacunación de recién nacidos en zonas muy endémicas. El elevado costo de la HBIG impide su uso casi en todos los países.

Los pacientes con hepatitis B aguda por lo general no necesitan aislarse, siempre y cuando se observen estrictamente las precauciones en el manejo de la sangre y los instrumentos, tanto en las áreas de asistencia clínica general como en los laboratorios de análisis. Puesto que los cónyuges y las parejas sexuales de personas con este trastorno corren el riesgo de adquirir hepatitis B de tipo clínico, deben informarse sobre los procedimientos que podrían incrementar el riesgo de infección o transmisión. No hay evidencia de que quienes manejan los alimentos portadores de HBsAg y asintomáticos planteen un riesgo sanitario para el público en general.

D. Hepatitis C

No se dispone de ninguna vacuna contra la hepatitis C aunque se están realizando pruebas para varias vacunas elegibles. Las medidas de control se enfocan en las actividades de prevención que reducen los riesgos de contraer el HCV; éstas comprenden detección sistemática y pruebas en donadores de sangre, plasma, órganos, tejidos y semen; inactivación viral de productos derivados del plasma; asesoría a personas sobre prácticas sexuales o toxicomanías de alto riesgo; implementación de procedimientos de control de la infección en la asistencia sanitaria y en otros contextos; y la información a los profesionales y al público.

E. Hepatitis D

La hepatitis delta puede prevenirse mediante la vacunación contra la hepatitis B de las personas susceptibles a ella. Sin embargo, la vacunación no protege a los portadores de hepatitis B de la sobreinfección por HDV.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Se conocen cinco virus diferentes que causan hepatitis (inflamación del hígado): el virus de hepatitis A (HAV); el de hepatitis B (HBV); el de hepatitis C (HCV); el de hepatitis D (HDV) y el de hepatitis E (HEV).
- Los cinco virus de hepatitis se han clasificado en diferentes familias y géneros, y muestran variaciones en su virión, propiedades del genoma y perfiles de replicación.
- HAV y HEV se transmiten por exposición fecal-oral; HBV, HCV y HDV se transmiten por vías parenterales.
- HAV ocasiona brotes de la enfermedad a menudo en campamentos o en instituciones.
- HBV, HCV y HDV a menudo originan infecciones crónicas, pero HAV y HEV no tienen tal característica.
- Los marcadores serológicos son útiles para conocer el agente causal de casos individuales de hepatitis.
- Muchas personas infectadas de HBV en su lactancia terminan por mostrar infecciones crónicas y están expuestas al peligro de presentar hepatopatías en su vida adulta.
- La mayor parte de las infecciones por HCV ocasionan infecciones crónicas incluso en adultos; tales personas están expuestas al peligro de presentar ulteriormente hepatopatía.
- La hepatopatía asociada con HCV es la causa más frecuente de transplante de hígado en adultos.
- Las sobreinfecciones por HDV en portadores de HBV pueden ocasionar hepatitis fulminante casi siempre mortal.
- HBV y HCV son causas de cáncer de hígado que puede aparecer años después de la infección.
- Se cuenta con vacunas antivirales contra HAV y HBV.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. En la ciudad de Nueva York una mujer de 24 años de edad es hospitalizada a causa de ictericia. Al realizar su estudio diagnóstico se encontró que tiene una infección por HCV. El principal factor de riesgo para la infección por HCV en Estados Unidos es
   (A) Tatuajes
   (B) Uso de drogas inyectables
   (C) Transfusiones sanguíneas
   (D) Actividad sexual
   (E) Trabajo en ocupaciones relacionadas en la asistencia sanitaria
2. ¿Cuál de las siguientes exposiciones plantea un riesgo para la infección por hepatitis?
   (A) Una enfermera sufre una punción con una aguja mientras retiraba insulina para administrar a un paciente diabético infectado con HBV
   (B) Un ama de casa tiene contacto de la piel intacta con las heces mientras limpia el retrete
   (C) Un técnico de quirófano con las manos agrietadas y con abrasión observa sangre bajo sus guantes después de ayudar en una operación en un paciente con una infección por HCV
   (D) Un niño bebe de la misma taza que su madre, quien tiene una infección por HAV
   (E) Un tendero come un emparedado preparado por un trabajador con una infección por HBV asintomática
3. En Nueva Delhi ocurrió una epidemia de ictericia causada por HEV. El HEV
   (A) Se encuentra en roedores y cerdos
   (B) Es una causa principal de hepatitis transmitida por la sangre
   (C) Es la causa de una enfermedad que se parece a la hepatitis C
   (D) Puede establecer infecciones crónicas
   (E) Conlleva un aumento del riesgo de cáncer hepático
4. El agente delta, HDV, se detecta solamente en personas que han tenido infección aguda o crónica por HBV. Señale la afirmación más correcta:
   (A) HDV es un mutante deficiente de HBV
   (B) HDV depende del antígeno de superficie de HBV para la formación del virión
   (C) HDV induce una respuesta inmunitaria indistinguible a la inducida por HBV
   (D) HDV guarda relación con HCV
   (E) HDV contiene un genoma circular de DNA

5. Una mujer de 23 años de edad está pensando realizar un viaje de un año por toda Europa, Egipto y el subcontinente indio y recibe una vacuna contra la hepatitis A. La vacuna actual contra la hepatitis A es
   (A) Una vacuna de virus vivos atenuados
   (B) Una vacuna de DNA recombinante
   (C) Una vacuna de virus inactivado con formalina
   (D) Una vacuna de subunidad de glucoproteína de envoltura
   (E) Un poliovirus quimérico que expresa epítopos neutralizantes de HAV
6. Las siguientes aseveraciones sobre la infección por HCV y la hepatopatía crónica asociada en Estados Unidos son correctas *excepto* que
   (A) HCV es causa de 40% de los casos de hepatitis crónica
   (B) La infección crónica sobreviene en la mayoría de las personas infectadas por HCV (70 a 90 por ciento)
   (C) La enfermedad hepática relacionada con HCV es la principal causa de trasplante hepático
   (D) La viremia por HCV ocurre transitoriamente durante las primeras etapas de la infección
   (E) Los pacientes infectados por HCV tienen un riesgo elevado (5 al 20%) de cáncer hepático
7. Un varón de mediana edad se queja de fiebre de instauración aguda, náusea y dolor en el hipocondrio derecho. Se había observado ictericia y orina oscura varios días antes. Un análisis de laboratorio fue positivo para anticuerpos IgM contra HAV. El médico puede decirle al paciente que
   (A) Probablemente adquirió la infección de una transfusión sanguínea reciente
   (B) Probablemente presentará hepatitis crónica
   (C) Tendrá un riesgo elevado de presentar carcinoma hepatocelular
   (D) Será resistente a la infección por hepatitis E
   (E) Puede transmitir la infección a familiares por la diseminación interpersonal hasta por dos semanas
8. Diversos virus diferentes pueden causar hepatitis. Una de las siguientes afirmaciones es aplicable a los cuatro virus: HAV, HCV, HDV y HEV
   (A) Contiene un genoma de RNA monocatenario
   (B) Es transmitido principalmente por la vía parenteral
   (C) Es transmitido principalmente por la vía fecal-oral
   (D) Se asocia con la hepatitis fulminante
   (E) Experimenta una variación secuencial durante la infección crónica
9. Un estudiante de 30 años de edad acude al servicio de urgencias a causa de fiebre y anorexia durante los últimos tres días. Al parecer presenta ictericia y hepatomegalia dolorosa. Un análisis de laboratorio muestra elevación de las aminotransferasas. El paciente refiere antecedente de haber recibido vacuna contra la hepatitis B dos años antes pero no había recibido la vacuna contra la hepatitis A. Los resultados de sus análisis serológicos para la hepatitis son los siguientes: negatividad de anticuerpos IgM contra HAV, positividad para IgG contra HAV, negatividad para HBsAg, positividad para anticuerpos contra HBs, negatividad para anticuerpos contra HBc, negatividad para anticuerpos contra HCV y positividad para anticuerpos contra HCV. La conclusión más exacta es que probablemente
   (A) Tiene ahora hepatitis A, no se ha infectado con HBV y tenía antes hepatitis C
   (B) Tiene hepatitis A ahora y se ha infectado con HBV y HCV en el pasado
   (C) Se ha infectado con HAV y HCV en el pasado y ahora tiene hepatitis B
   (D) Se ha infectado con HAV en el pasado, no se ha infectado con HBV y tiene ahora hepatitis C
   (E) Se ha infectado con HAV y HCV en el pasado, no se ha infectado con HBV y tiene ahora hepatitis E
10. Una enfermera de 36 años resulta positiva para HBsAg y positiva para HBeAg. La enfermera muy probablemente
    (A) Tiene hepatitis aguda y puede infectar a otras personas
    (B) Tiene infecciones por HBV y HEV
    (C) Tiene una infección crónica por HBV
    (D) Ha eliminado una infección previa por HBV
    (E) Fue inmunizada previamente con la vacuna contra HBV preparada de portadores sanos positivos para HBsAg
11. Las siguientes personas tienen un riesgo más alto de infección por HAV y deben vacunarse de manera sistemática, excepto:
    (A) Personas que viajan o que trabajan en países que tienen altos niveles de infección por HAV
    (B) Varones que tienen sexo con varones
    (C) Usuarios de drogas ilícitas (tanto inyectables como no inyectables)
    (D) Personas que tienen un riesgo laboral de infección
    (E) Personas que tienen un trastorno de factor de la coagulación
    (F) Personas susceptibles que tienen hepatopatía crónica
    (G) Maestros de escuelas primarias
12. Hay una variación global en la prevalencia de la infección por HBV. ¿Cuál de las siguientes zonas geográficas tiene bajo nivel endémico (prevalencia de HBsAg < 2%)?
    (A) Sureste de Asia
    (B) Las islas del Pacífico
    (C) Europa Oriental
    (D) Australia
    (E) África subsahariana
13. ¿En cuáles de las siguientes personas no se recomienda la vacuna contra la hepatitis B porque tienen un factor de riesgo para infección por el HBV?
    (A) Personas sexualmente activas que a largo plazo no tienen una relación mutuamente monogámica
    (B) Usuarios de drogas inyectables
    (C) Mujeres embarazadas
    (D) Personas que viven en una casa con una persona que es positiva para HBsAg
    (E) Personas que buscan tratamiento de una enfermedad de transmisión sexual
14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a HBIG no es correcta?
    (A) HBIG proporciona protección temporal cuando se administra en dosis usuales
    (B) HBIG suele utilizarse en vez de la vacuna contra la hepatitis B para la inmunoprofilaxis después de la exposición a fin de prevenir la infección por HBV
    (C) No existen pruebas de que HBV, HCV o HIV alguna vez se hayan transmitido a través de la HBIG en Estados Unidos
    (D) No se utiliza MHBIG como protección contra la infección por HCV
15. Las afirmaciones siguientes respecto al HAV son correctas, *excepto*:
    (A) La vacuna de hepatitis A contiene HAV inactivado, como inmunógeno
    (B) HAV suele causar infección asintomática en niños
    (C) El diagnóstico de hepatitis A por lo común se confirma al aislar HAV en cultivo celular
    (D) El concentrado de gammaglobulina se utiliza para evitar la hepatitis A en personas expuestas a ella

16. ¿Cuál de los siguientes tipos serológicos sugiere un paciente con hepatitis B crónica con una mutación precentral?
    (A) Positivo a HBsAg, negativo a HBsAb, positivo a anti-HBc, positivo a HBeAg, positivo a DNA de HBV
    (B) Positivo a HBsAg, negativo a HBsAb, positivo a anti-HBc, positivo a HBeAg, positivo a DNA de HBV
    (C) Positivo a HBsAg, positivo a HBsAb, positivo a anti-HBc, negativo a HBeAg, positivo a DNA de HBV
    (D) Negativo a HBsAg, positivo a HBsAb, positivo a anti-HBc, negativo a HBeAg, negativo a DNA de HBV
17. Varón de 35 años con adicción por drogas intravenosas que ha sido portador de HBsAg durante 10 años. Repentinamente presenta hepatitis fulminante aguda y fallece en término de 10 días. De los estudios de laboratorio que se señalaron: ¿cuál hubiera contribuido con *mayor certeza* al diagnóstico?
    (A) Anticuerpo antiHBs
    (B) HBeAg
    (C) Anticuerpo contra HBc
    (D) Anticuerpo contra virus delta
18. Las afirmaciones siguientes respecto a HCV y HDV son correctas *excepto:*
    (A) HCV es un RNA virus
    (B) HDV se transmite más bien por la vía fecal-oral
    (C) HDV es un virus defectuoso que muestra réplica sólo dentro de una célula infectada con HBV
    (D) Las personas infectadas de HCV suelen tornarse portadoras crónicas de HCV y están predispuestas a presentar carcinoma hepatocelular
19. De las afirmaciones siguientes respecto a HBV: ¿cuál es *falsa*?
    (A) En la réplica interviene la transcriptasa inversa
    (B) Las personas infectadas tienen un gran número de partículas virales no infecciosas que circulan en su corriente sanguínea
    (C) La infección ocasiona cirrosis
    (D) Las infecciones asintomáticas duran años
    (E) En Estados Unidos la incidencia de infección ha aumentado progresivamente en los últimos años
20. ¿Cuál de las clases siguientes de fármacos puede incluir a los del tratamiento de la hepatitis C?
    (A) Inhibidores de proteasa, inhibidores de polimerasa e interleucinas
    (B) Inhibidores de polimerasa no nucleosídicos, inhibidores de proteasa e interferones
    (C) Inhibidores de transcripción e interferones
    (D) Inhibidores de proteasa, inhibidores de polimerasa e interferones
    (E) Inhibidores de transcriptasa inversa e interferones

Respuestas

1. B	6. D	11. G	16. C
2. C	7. E	12. D	17. D
3. A	8. A	13. C	18. B
4. B	9. D	14. B	19. E
5. C	10. A	15. C	20. D

BIBLIOGRAFÍA

Ahmad I, Holla RP, Jameel S: Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res* 2011;161:47.

Centers for Disease Control and Prevention. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP); Part 1: Immunization of Infants, Children, and Adolescents. *MMWR* 2005;54(RR-16).1-39.

Centers for Disease Control and Prevention. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP); Part 2: Immunization of Adults. *MMWR* 2006;55(RR-16).1-40.

Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1996;45(No. RR-15):1-38.

Chun HM, Fieberg AM, Hullsiek KH, *et al.*: Epidemiology of hepatitis B virus infection in a US cohort of HIV-infected individuals during the past 20 years. *Clin Infect Dis* 2010;50:426.

Deuffic-Burban S, Delarocque-Astagneau E, Abiteboul D, *et al.*: Blood-borne viruses in health care workers: Prevention and management. *J Clin Virol* 2011;52:4.

Emerson SU, Purcell RH: Hepatitis E virus. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Hepatitis B vaccines. WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:405.

Hepatitis C. *Nature* 2011;474(7350):S1. [Entire issue.]

Hollinger FB, Emerson SU: Hepatitis A virus. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Lemon SM, Walker C, Alter MJ, Yi M: Hepatitis C virus. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

O'Brien SF, Yi QL, Fan W, *et al.*: Current incidence and residual risk of HIV, HBV, and HCV at Canadian Blood Services. *Vox Sang* 2012;103:83.

Papatheodoris GV, Hadziyannis SJ: Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J Viral Hepatitis* 2001;8:311.

Purdy MA, Khudyakov YE: The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus Res* 2011;161:31.

Said ZNA: An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroentero* 2011;17:1927.

Seeger C, Zoulim F, Mason WS: Hepadnaviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Taylor JM, Farci P, Purcell RH: Hepatitis D (delta) virus. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Centers for Disease Control and Prevention. Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Postexposure Prophylaxis. *MMWR* 2001;50(RR-11):1-67.

Weinbaum C, Lyerla R, Margolis HS: Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. *MMWR* 2003;52(RR-1):1-33.

CAPÍTULO

36

Picornavirus (grupos de enterovirus y rinovirus)

Los picornavirus representan una familia de virus muy extensa respecto al número de miembros pero uno de los más pequeños en términos del tamaño del virión y de la complejidad genética. Comprenden dos grupos principales de microorganismos patógenos: **enterovirus** y **rinovirus**. Los enterovirus son residentes transitorios del tubo digestivo humano y pueden aislarse de la faringe o del colon. Los rinovirus se alojan en el aparato respiratorio y se aislan sobre todo de la nariz y la faringe. Los picornavirus se asocian menos frecuentemente con enfermedad en seres humanos; incluyen virus de la hepatitis A, parechovirus, cardiovirus y virus Aichi; varios géneros de picornavirus también causan enfermedad en animales, plantas e insectos.

Muchos picornavirus causan enfermedades en el ser humano que varían desde parálisis grave hasta meningitis aséptica, pleurodinia, miocarditis, lesiones vesiculares y exantemáticas de la piel, lesiones mucocutáneas, enfermedades respiratorias, enfermedades febriles indiferenciadas, conjuntivitis y enfermedad grave generalizada de los lactantes. Sin embargo, la infección subclínica es mucho más frecuente que la enfermedad clínicamente manifiesta. Es difícil establecer la causa, pues diferentes virus pueden producir el mismo síndrome, los mismos picornavirus pueden causar más de un solo síndrome; y algunos síntomas no se pueden distinguir de los causados por otros tipos de virus. La enfermedad más importante causada por cualquier enterovirus es la poliomielitis.

En todo el mundo se está haciendo lo posible por lograr la meta de la erradicación total de la poliomielitis.

PROPIEDADES DE LOS PICORNAVIRUS

En el cuadro 36-1 se muestran propiedades importantes de los picornavirus.

Estructura y composición

El virión de enterovirus y de rinovirus consta de una capa de cápside de 60 subunidades y cada una de las cuatro proteínas (VP1 a VP4) está dispuesta con una simetría icosaédrica en torno a un genoma constituido por una sola cadena de RNA de sentido positivo (figura 36-1). Los parechovirus son similares excepto que sus cápsides contienen sólo tres proteínas, ya que VP0 no es desdoblada en VP2 y VP4.

Por medio de los estudios de difracción de rayos X se han determinado las estructuras moleculares de los poliovirus y los rinovirus. Las tres proteínas virales más grandes, VP1 a VP3, tienen una estructura central muy similar, en la cual el esqueleto peptídico de la proteína forma un asa sobre sí mismo y da origen a un barril de ocho cadenas que se mantienen unidas mediante enlaces de hidrógeno (el barril β). Las cadenas de aminoácidos entre el barril β y los grupos amino-terminal y carboxilo-terminal de la proteína contienen una serie de asas. Éstas constituyen los principales sitios antigénicos que se hallan en la superficie del virión y que intervienen en la neutralización de la infección viral.

Hay una hendidura o garganta prominente alrededor de cada vértice pentamérico presente en la superficie de la partícula viral. Se considera que el sitio de unión al receptor utilizado para adherir el virión a la célula hospedadora está cerca de la base de la hendidura. Esta ubicación supuestamente protege el lugar crucial de la unión celular de la variación estructural influida por la selección de anticuerpos en los hospedadores, ya que la hendidura es demasiado estrecha para permitir la penetración profunda de las moléculas de anticuerpos (figura 36-1).

El RNA del genoma tiene un tamaño que varía de 7.2 kb (rinovirus humano) a 7.4 kb (poliovirus, virus de la hepatitis A) hasta 8.4 kb (aphthovirus). La organización del genoma es similar para todos (figura 36-2). El genoma es poliadenilado en el extremo 3′ y tiene una proteína codificada viral pequeña (VPg) unida en forma covalente al extremo 5′. El RNA genómico de sentido positivo es infeccioso.

Los enterovirus se mantienen estables en un pH ácido (3.0 a 5.0) durante 1 a 3 h, en tanto que los rinovirus son acidolábiles. Los enterovirus y algunos rinovirus se estabilizan con cloruro de magnesio contra la inactivación térmica. Los enterovirus tienen una densidad de flotación en cloruro de cesio de casi 1.34 g/ml; los rinovirus humanos, alrededor de 1.4 g/ml.

Clasificación

La familia **Picornaviridae** contiene doce géneros, entre ellos, *Enterovirus* (enterovirus y rinovirus), *Hepatovirus* (virus de la hepatitis A), *Kobuvirus* (virus Aichi), *Parechovirus* (parechovirus), *Cardiovirus* (cardiovirus) y *Aphthovirus* (virus de la fiebre aftosa). Los primeros cinco grupos contienen microorganismos patógenos humanos importantes. Desde el punto de vista histórico se concedió a los rhinovirus un género separado, pero ahora se les considera como miembros del género *Enterovirus*.

Los enterovirus de origen humano se subdividen en siete especies (enterovirus humanos A-D y rinovirus humanos A-C) con base principalmente en los análisis de secuencia. La taxonomía previa para este virus comprendía lo siguiente:

apter 36_Carroll_4R.indd 515 15/04/16

CUADRO 36-1 Propiedades importantes de los picornavirus

Virión: Icosaédrico, 28 a 30 nm de diámetro, contiene 60 subunidades	
Composición: RNA (30%), proteína (70%)	
Genoma: RNA monocatenario, lineal, de sentido positivo, 7.2 a 8.4 kb de tamaño, peso molecular de 2.5 millones, infeccioso, contiene proteína ligada al genoma (VPg)	
Proteínas: Cuatro polipéptidos principales desdoblados a partir de una poliproteína precursora de gran tamaño. Las proteínas de la cápside de la superficie VP1 y VP3 son zonas de unión a anticuerpo importantes. VP4 es una proteína interna	
Envoltura: Ninguna	
Replicación: Citoplasma	
Característica sobresaliente: La familia está constituida por muchos tipos de enterovirus y rinovirus que infectan al ser humano y a los animales inferiores, causando diversas enfermedades que van desde la poliomielitis hasta la meningitis aséptica y el resfriado común.	

1) poliovirus, tipos 1 a 3; 2) coxsackievirus del grupo A, tipos 1 a 24 (no hay tipo 15, 18 o 23); 3) coxsackievirus del grupo B, tipos 1 a 6; 4) virus ECHO tipos 1 a 33 (no existen los tipos 8, 10, 22, 23, 28 o 34), y 5) enterovirus, tipos 68 a 116 (no hay tipo 72) (cuadro 36-2). Desde 1969, se han asignado nuevos números de tipo a enterovirus en vez de subclasificarlos como coxsackievirus o virus ECHO. Se han mantenido los nombres originales de los enterovirus previamente identificados. Los virus coxsackie A corresponden principalmente a la especie de los enterovirus humanos HEV-A y HEV-C y los virus coxsackie B y los virus ECHO a la HEV-B.

Los rhinovirus humanos incluyen más de 100 tipos antigénicos e incluyen las especies A, B y C (HRV; *human rhinovirus*). Los rinovirus de otras especies de hospedador comprenden los de caballo y los del ganado vacuno.

El virus de la hepatitis A fue clasificado originalmente como enterovirus de tipo 72 pero ahora está asignado a un género diferente. Se describe en el capítulo 35.

Los parechovirus, previamente clasificados como virus ECHO 22 y 23, resultaron significativamente diferentes de los enterovirus tanto en las propiedades biológicas como en las características moleculares y se ubicaron en un nuevo género (*Parechovirus*).

Otros picornavirus son el virus de la fiebre aftosa del ganado (*Aphthovirus*) y el virus de la encefalomiocarditis de los roedores (*Cardiovirus*).

La amplia gama de picornavirus varía bastante de un tipo al otro e incluso entre las cepas del mismo tipo. Muchos enterovirus (poliovirus, virus ECHO y algunos coxsackievirus) pueden cultivarse a una temperatura de 37 °C en células humanas y de mono; la mayor parte de las cepas de rinovirus se puede aislar sólo en células humanas a una temperatura de 33 °C. Los coxsackievirus son patógenos para los ratones recién nacidos.

Replicación de picornavirus

El ciclo de replicación de picornavirus ocurre en el citoplasma de las células (figura 36-3). En primer lugar, el virión se adhiere a un receptor específico en la membrana plasmática. Los receptores de poliovirus y de rinovirus humanos son miembros de la superfamilia del gen de la inmunoglobulina, que comprende anticuerpos y algunas moléculas de adhesión a la superficie celular. En cambio, los virus ECHO reconocen un miembro de la superfamilia de adhesión de la integrina. No todos los rinovirus o virus ECHO utilizan el mismo receptor celular. Los virus que causan el exantema vírico de manos, pies y boca (enterovirus 71 y virus coxsackie A16) utilizan dos receptores que son SCARB2 y PSGL1. La unión al receptor desencadena un cambio en la conformación del virión que da por resultado la liberación del RNA viral hacia el citosol de la célula. VPg es retirado del RNA viral y se asocia con los ribosomas. La traducción ocurre a través de un mecanismo independiente de la cápside, utilizando el lugar de entrada en el ribosoma interno (IRES, *internal ribosome entry site*) hacia 3′ desde el extremo 5′ del genoma viral. Esto evita la necesidad del complejo de factor de iniciación celular intacto (eIF4F), que necesitan muchos mRNA celulares con envoltura. El eIF4 suele ser desdoblado por una proteasa viral, lo que da lugar a la inactivación de la síntesis de proteína del hospedador y la traducción preferente de RNA virales.

El RNA viral infectante se traduce en una poliproteína que contiene proteínas de la envoltura y proteínas de replicación esenciales. Esta poliproteína se desdobla rápidamente en fragmentos por las proteinasas codificadas en la poliproteína (figura 36-2). La síntesis del nuevo RNA viral no puede comenzar hasta que se producen las proteínas de replicación codificadas por el virus, lo que comprende una polimerasa de RNA dependiente de RNA. La cadena de RNA viral infectante se copia y a su vez sirve de plantilla para la síntesis de nuevas cadenas de sentido positivo. Se generan muchas cadenas codificantes a partir de cada plantilla de las de sentido negativo. Algunas nuevas cadenas de sentido positivo son recicladas como plantillas para amplificar la reserva de descendencia de RNA; muchas cadenas positivas son empacadas en viriones.

La maduración implica varios pasos de desdoblamiento. La proteína P1 precursora de la envoltura (figura 36-2) es escindida para formar agregados de VP0, VP3 y VP1. Cuando se alcanza una concentración adecuada, estos "protómeros" se ensamblan en pentámeros que empacan VPg-RNA de sentido positivo para formar "proviriones". Los proviriones no son infecciosos hasta que un desdoblamiento final modifica VP0 a VP4 y VP2. Las partículas de virus maduras son liberadas cuando la célula hospedadora se desintegra. El ciclo de multiplicación en la mayoría de los picornavirus tarda 5 a 10 horas.

GRUPO DE ENTEROVIRUS

POLIOVIRUS

La poliomielitis es una enfermedad infecciosa aguda que en su forma grave afecta al sistema nervioso central (SNC). La destrucción de las motoneuronas en la médula espinal da por resultado parálisis flácida. Sin embargo, la mayor parte de las infecciones por poliovirus es subclínica (asintomática).

El poliovirus ha servido de enterovirus modelo en muchos estudios de laboratorio de biología molecular de replicación de picornavirus.

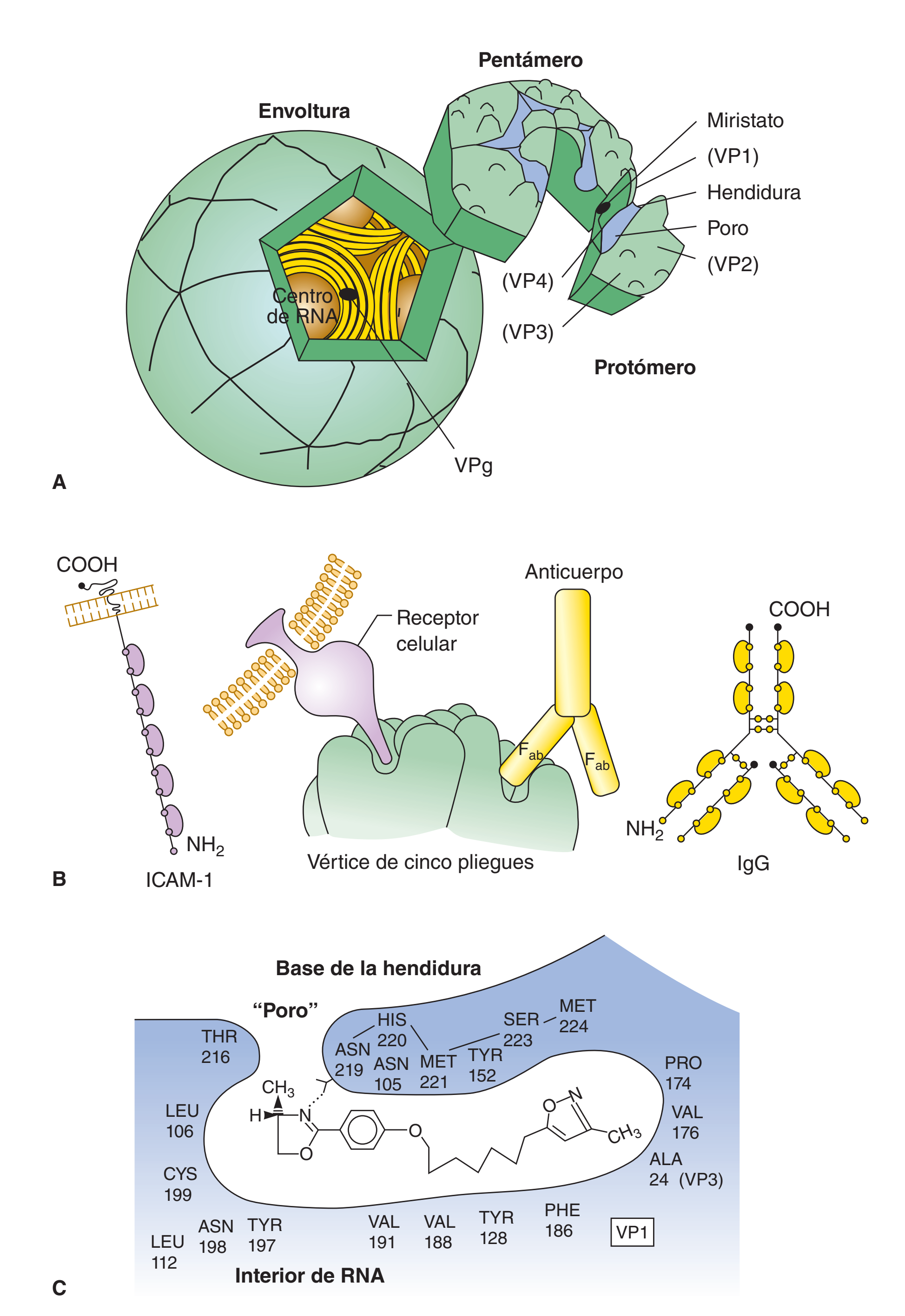


FIGURA 36-1 Estructura de un picornavirus típico. **A:** Esquema explotado que muestra la ubicación interna del genoma de RNA rodeado por una cápside que consta de pentámeros de proteínas VP1, VP2, VP3 y VP4. Obsérvese la depresión "garganta" que rodea al vértice del pentámero. **B:** Unión del receptor celular a la base de la hendidura. El receptor de rinovirus principal (molécula de adhesión intercelular-1 [ICAM-1]) tiene un diámetro de aproximadamente la mitad de una molécula de anticuerpo IgG. **C:** Ubicación de un sitio de unión del fármaco en VP1 de un rinovirus. El antiviral que se muestra, WIN 52084, impide la unión viral al deformar parte de la base de la hendidura. (Reproducida con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in.chief]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

Propiedades del virus

A. Propiedades generales

Las partículas de poliovirus son enterovirus típicos (véase antes). Se inactivan cuando se calientan a una temperatura de 55 °C durante 30 min, pero el Mg^{2+}, en concentración de 1 mol/L, impide su inactivación. Si bien el poliovirus purificado se inactiva con una concentración de cloro de 0.1 ppm, se necesitan concentraciones mucho más altas de cloro para desinfectar el agua residual que contiene virus en suspensiones fecales y en presencia de otra materia orgánica. Los poliovirus no son afectados por el éter o el desoxicolato de sodio.

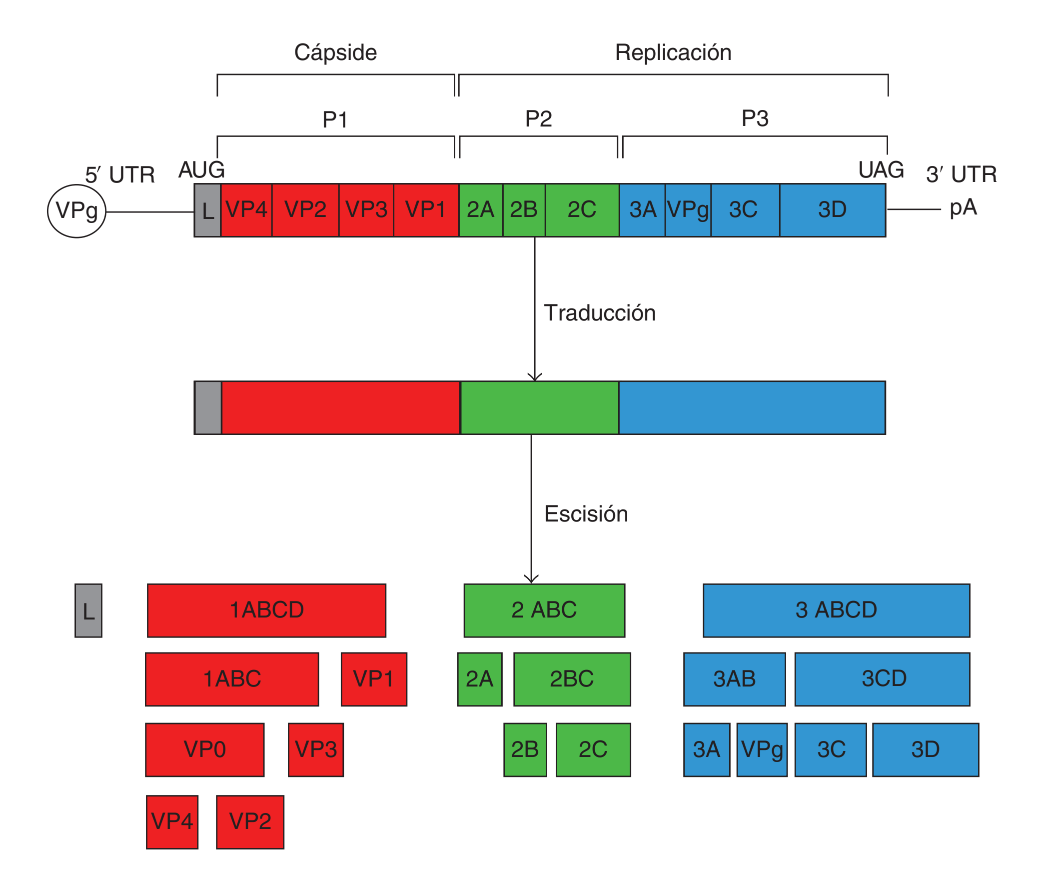


FIGURA 36-2 Organización y expresión del genoma de picornavirus. El RNA genómico del virus posee una proteína VPg que es parte del genoma en el extremo 5′ y está poliadenilada en la terminación 3′. La letra L especifica la proteína líder que aparece en cardiovirus y aphthovirus, pero no en enterovirus, rhinovirus o virus de hepatitis A de humanos. El genoma del RNA monocatenario y de sentido positivo se traduce en una poliproteína. El dominio P1 (*rojo*) codifica proteínas de la cápside y los dominios P2 (*verde*) y P3 (*azul*), codifican proteínas que no son de la cápside utilizadas para el procesamiento proteínico y la replicación. La escisión de la poliproteína se logra por proteinasas 2A y 3C codificadas por el virus. La proteína 2A se encarga de las escisiones tempranas de la poliproteína, y todos los demás desdoblamientos son realizados por la proteinasa 3C. (Reproducida con autorización de Kerkvliet J, Edukulla R, Rodriguez M: Novel roles of the picornaviral 3D polymerase in viral pathogenesis. *Adv Virol* 2010;368068. Copyright © 2010 Jason Kerkvliet *et al.*)

B. Susceptibilidad animal y desarrollo del virus

Los poliovirus tienen una gama de hospedadores muy restringida. La mayor parte de las cepas infectarán a los monos cuando se inoculen directamente en el cerebro o en la médula espinal. Los chimpancés y los monos cynomolgus, también pueden infectarse por vía oral; en los chimpancés, la infección suele ser asintomática y los animales se convierten en portadores intestinales del virus.

La mayor parte de las cepas puede desarrollarse en cultivos primarios o continuos de líneas celulares derivados de diversos tejidos humanos o de riñón, testículo o músculo de mono pero no de los tejidos de animales inferiores.

Los poliovirus necesitan un receptor de membrana específico de los primates para infectar y la ausencia de este receptor en la superficie de las células de no primates hace que los virus sean resistentes. Esta restricción puede superarse mediante la transfección de RNA de poliovirus infeccioso en las células resistentes. La introducción del gen de receptor viral convierte las células resistentes en células susceptibles. Se han desarrollado ratones transgénicos que albergan el gen de receptor de primate; son susceptibles a los poliovirus humanos.

C. Propiedades antigénicas

Hay tres tipos antigénicos de poliovirus basados en epítopos encontrados en las proteínas VP1, VP2 y VP3.

Patogenia y anatomía patológica

La boca es la vía de entrada del virus y la multiplicación primaria tiene lugar en la bucofaringe o en el intestino. Por lo regular, el virus está presente en la faringe y en las heces antes del inicio de la enfermedad. Una semana después de la infección hay pocos virus presentes en la faringe, pero continúa excretándose en las heces durante varias semanas aun cuando existan concentraciones altas de anticuerpo en la sangre.

Se puede detectar el virus en la sangre de los pacientes con poliomielitis no paralítica. Los anticuerpos contra el virus aparecen en las primeras etapas de la enfermedad, por lo general antes de que ocurra la parálisis.

Se piensa que el virus se multiplica primero en las amígdalas, los ganglios linfáticos del cuello, las placas de Peyer y el intestino delgado. Después, el sistema nervioso central puede ser invadido a través de la sangre circulante.

CUADRO 36-2 Características de los picornavirus humanos

Propiedad	Enterovirus A-D del humano					Rhinovirus A-C del humano	Parechovirus del humano[d]
	Polio	Coxsackie A[a]	Coxsackie B	Virus ECHO[a]	Enterovirus[b]		
Serotipos	1 a 3	1 a 24	1 a 6	1 a 33	68 a 116	> 150	1 a 14
pH ácido (pH 3.0)	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Lábil	Estable
Densidad (g/ml)	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.4	
Temperatura óptima para desarrollo (°C)	37	37	37	37	37	33	37
Zonas frecuentes de aislamiento en seres humanos							
Nariz	0	0	0	0	0	+	0
Faringe	+	+	+	+	+	+	
Intestino grueso	+	+	+	+	+	0	+
Infecta a ratones recién nacidos[e]	0	+	+	0		0	

[a] Debido a las reclasificaciones no hay virus coxsackie A15, A18 o A23, virus ECHO de tipo 8, 10, 22, 23, 28 o 34, o enterovirus tipo 72.

[b] Desde 1969, se ha asignado un número a nuevos enterovirus en vez de subclasificarlos con coxsackievirus o virus ECHO. Los enterovirus 103, 108, 112 y 115 todavía no se han incluido en la clasificación del International Committee on Taxonomy of Viruses.

[c] El rinovirus 87 se considera que es el mismo que el enterovirus 68.

[d] Los parechovirus 1 y 2 se clasificaron anteriormente como virus ECHO tipos 22 y 23.

[e] Existe alguna variabilidad en esta propiedad.

Los poliovirus pueden diseminarse a través de los axones de los nervios periféricos hasta el sistema nervioso central, donde continúan avanzando a través de las fibras de las motoneuronas inferiores para afectar cada vez más a la médula espinal o al cerebro. Los poliovirus invaden determinados tipos de células nerviosas y en el proceso de su multiplicación intracelular pueden lesionar o destruir por completo estas células.

Los poliovirus no se multiplican en músculo *in vivo*. Los cambios que ocurren en los nervios periféricos y en los músculos voluntarios son secundarios a la destrucción de las células nerviosas. Algunas células que pierden su función pueden restablecerse por completo. La inflamación es secundaria al ataque en las células nerviosas.

Además de los cambios patológicos observados en el sistema nervioso, puede presentarse miocarditis, hiperplasia linfática y ulceración de las placas de Peyer.

Manifestaciones clínicas

Cuando una persona que es susceptible a la infección se expone al virus, la respuesta varía desde la infección asintomática hasta una enfermedad febril leve y parálisis grave y permanente. La

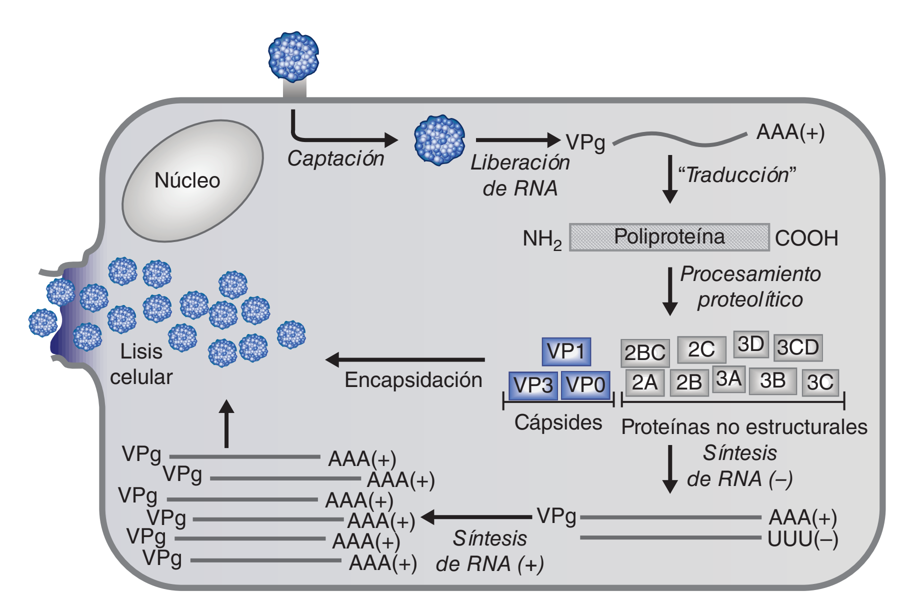


FIGURA 36-3 Esquema general del ciclo de replicación de picornavirus. (Reproducida con autorización de Zoll J, Heus HA, van Kuppeveld FJ, Melchers WJ: The structure-function relationship of the enterovirus 3'-UTR. *Virus Res* 2009;139:209-216. Copyright Elsevier.)

mayor parte de las infecciones son leves; sólo cerca de 1% de las infecciones produce enfermedad clínica.

El periodo de incubación suele ser de siete a 14 días pero puede variar de tres a 35 días.

A. Enfermedad leve

Ésta es la variante más frecuente de la enfermedad. El paciente sólo tiene una enfermedad leve, caracterizada por fiebre, ataque al estado general, somnolencia, cefalea, náusea, vómito, estreñimiento y faringitis en diversas combinaciones. La recuperación ocurre en pocos días.

B. Poliomielitis no paralítica (meningitis aséptica)

Además de los signos y síntomas presentados en el párrafo anterior, el paciente con la variante no paralítica tiene rigidez y dolor en la espalda y el cuello. La enfermedad dura dos a 10 días y el restablecimiento es rápido y completo. El poliovirus es sólo uno de los múltiples virus que producen meningitis aséptica. En un pequeño porcentaje de los casos, la enfermedad avanza a la parálisis.

C. Poliomielitis paralítica

La manifestación predominante es la parálisis flácida resultado de la lesión de la motoneurona inferior. Sin embargo, también se presentan incoordinación secundaria a la invasión del tronco encefálico y espasmos dolorosos de los músculos no paralizados. El grado de lesión es muy variable. El restablecimiento máximo, por lo general ocurre en los primeros seis meses y la parálisis residual persiste por mucho más tiempo.

D. Atrofia muscular progresiva después de la poliomielitis

Se ha observado un recrudecimiento de la parálisis y de la atrofia muscular en los pacientes decenios después de haber sufrido poliomielitis paralítica. Si bien la atrofia muscular progresiva consecutiva a la poliomielitis es poco frecuente, constituye un síndrome específico. No parece ser consecuencia de la infección persistente sino más bien resultado de cambios fisiológicos y seniles en los pacientes con parálisis que ya tienen una pérdida de las funciones neuromusculares.

Diagnóstico de laboratorio

El virus puede obtenerse de exudados faríngeos obtenidos poco después del inicio de la enfermedad así como de exudados rectales o de muestras de heces obtenidas por periodos prolongados. No se han identificado portadores permanentes entre las personas inmunocompetentes, pero se ha observado la excreción de poliovirus a largo plazo en algunas personas inmunodeficientes. El poliovirus pocas veces se aísla del líquido cefalorraquídeo, a diferencia de algunos coxsackievirus y virus ECHO.

Las muestras deben enviarse de inmediato al laboratorio y mantenerse congeladas si el envío demora. Los cultivos de células humanas o de mono se inoculan, incuban y observan. Los efectos citopatógenos aparecen en un lapso de tres a seis días. Se identifica un virus aislado y se tipifica mediante neutralización con antisuero específico. Asimismo, se puede identificar el virus más rápido mediante análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se necesitan muestras de suero por pares para demostrar una elevación del título de anticuerpo durante el curso de la enfermedad. Sólo la primera infección por el poliovirus produce respuesta estrictamente de tipo específico. Las infecciones subsiguientes por poliovirus heterotípicos inducen anticuerpos contra un antígeno de grupo que comparten los tres tipos.

Inmunidad

La inmunidad es permanente para el tipo de virus que produce la infección y es mediada predominantemente por anticuerpo. Puede haber un grado bajo de resistencia heterotípica inducida por la infección, sobre todo entre los poliovirus tipos 1 y 2.

La inmunidad pasiva se transmite de la madre a la descendencia. Los anticuerpos maternos gradualmente desaparecen durante los primeros seis meses de vida. El anticuerpo administrado en forma pasiva perdura sólo tres a cinco semanas.

El anticuerpo neutralizante del virus se forma poco después de la exposición al mismo, a menudo antes que comience la enfermedad, y al parecer persiste de por vida. Su formación en las primeras etapas de la enfermedad refleja el hecho de que hay una multiplicación viral en el cuerpo antes de la invasión del sistema nervioso. Puesto que el virus en el cerebro y en la médula espinal no está sujeto a la influencia de los títulos altos de anticuerpos en la sangre, la inmunización es útil sólo si antecede al inicio de los síntomas neurológicos.

La proteína de superficie VP1 del poliovirus contiene varios epítopos neutralizantes del virus, cada uno de los cuales contiene menos de 10 aminoácidos. Cada epítopo puede inducir anticuerpos neutralizantes del virus.

Erradicación global

La Organización Mundial de la Salud en 1988 lanzó una campaña para erradicar el poliovirus del mundo, igual a la que se realizó para el virus de la viruela. En 1988 se calcularon alrededor de 350 000 casos de poliomielitis en todo el mundo. En 1994, los países de América fueron certificados como libres del poliovirus silvestre, la región del Pacífico Occidental en el año 2000, y en Europa, en 2002. Se están logrando avances en todo el mundo; todavía se presentan cada año menos de 2 000 casos de poliomielitis, sobre todo en África y en el subcontinente indio. Desde 1999 no se han detectado casos por poliovirus natural de tipo 2.

En 2014, solamente en tres países persistió la forma endémica de la poliomielitis: Afganistán, Nigeria y Pakistán. En marzo de 2014, India recibió la certificación como país libre de poliomielitis. Sin embargo, en ocasiones se produjeron brotes causados por poliovirus natural en países en que se había erradicado la enfermedad, y se debió a importación del virus por viajes y migración. La estrategia seguida para identificar e interrumpir la transmisión del poliovirus incluyó vigilancia de casos de parálisis flácida aguda, buscar en aguas negras los poliovirus, y protección de lactantes con vacuna oral antipoliomielítica.

Epidemiología

La poliomielitis ha tenido tres fases epidemiológicas: endémica, epidémica y la era de la vacuna. Las primeras dos reflejan las pautas previas a la vacuna. La explicación generalmente aceptada es que la mejoría de los sistemas de higiene y de las condiciones sanitarias en los climas más fríos promovió la transmisión de la enfermedad paralítica endémica a epidémica en estos países.

Antes de que comenzaran los esfuerzos para la erradicación mundial, la poliomielitis ocurría en todo el mundo, en todo el año en el trópico y durante el verano y el otoño en las zonas templadas. Los brotes epidémicos durante el invierno eran infrecuentes.

La enfermedad se presenta en todos los grupos de edad, pero los niños suelen ser más susceptibles que los adultos debido a la inmunidad adquirida de la población adulta. En los países en vías de desarrollo, donde las condiciones de vida favorecen la amplia diseminación del virus, la poliomielitis es una enfermedad de la lactancia y de las primeras etapas de la infancia ("parálisis infantil"). En los países desarrollados, antes del advenimiento de la vacunación, la distribución por edades se modificó de manera que la mayoría de los pacientes tenía más de cinco años de edad y 25% era mayor de 15 años. La tasa de mortalidad es variable, es más alta en pacientes de edad más avanzada y puede llegar de 5 a 10 por ciento.

Antes de que comenzaran las campañas de vacunación en Estados Unidos, cada año surgían unos 21 000 casos de poliomielitis paralítica.

Los seres humanos son el único reservorio conocido de la infección. En regiones cálidas con condiciones de hacinamiento e higiene y sanidad deficientes, donde casi todos los niños adquieren inmunidad en las primeras etapas de la vida, los poliovirus se mantienen mediante la infección continua de una pequeña parte de la población. En zonas templadas con altos grados de higiene, después de las epidemias ha habido periodos de escasa diseminación del virus hasta que un número suficiente de niños susceptibles ha crecido para constituir un reservorio para la transmisión en la zona. Se puede aislar el virus de la faringe y del intestino de los pacientes y de portadores sanos. La prevalencia de la infección es más alta en los contactos domésticos.

En climas templados, la infección por enterovirus, incluido el poliovirus, se presenta principalmente durante el verano. El virus está presente en las aguas residuales durante periodos de gran prevalencia y puede ser fuente de contaminación del agua utilizada para beber, para bañarse o para riego. Existe una correlación directa entre la higiene deficiente, las malas condiciones sanitarias y el hacinamiento, y la adquisición de la infección y anticuerpos a una edad temprana.

Prevención y control

Se dispone de vacunas de virus vivos y virus muertos. La vacuna formalinizada (Salk) se prepara a partir de virus desarrollados en cultivos de riñón de mono. La vacuna de virus muertos produce anticuerpos humorales pero no desencadena inmunidad intestinal local de manera que el virus todavía puede multiplicarse en el intestino. La vacuna atenuada viva (Sabin) se produce sobre todo en cultivos celulares diploides de mono y ser humano y se suministra por la boca. La vacuna puede estabilizarse con cloruro de magnesio de manera que se puede mantener sin que pierda su potencia durante un año a una temperatura de 4 °C y durante cuatro semanas a una temperatura ambiente moderada (alrededor de 25 °C). La vacuna no estabilizada se debe mantener congelada hasta que se utilice.

La vacuna antipoliomielítica de microorganismos vivos infecta, se multiplica e inmuniza al hospedador contra cepas virulentas. En el proceso, la descendencia infecciosa del virus de la vacuna se disemina en la población. La vacuna produce no sólo anticuerpos IgM e IgG en la sangre sino también anticuerpos IgA secretores en el intestino, el cual luego se vuelve resistente a la reinfección (figura 30-10).

Tanto la vacuna de virus muertos como la de virus vivos inducen a la formación de anticuerpos y protegen al sistema nervioso central de la invasión subsiguiente por virus natural. Sin embargo, el intestino desarrolla un grado mayor de resistencia después de la administración de la vacuna del virus vivo.

Un factor limitante potencial de la vacuna oral es la interferencia. Si el tubo digestivo de un niño está infectado con otro enterovirus cuando se le administra la vacuna, puede bloquearse el establecimiento de la infección por poliomielitis y de la inmunidad. Esto podría ser un problema importante en determinadas zonas (sobre todo en regiones tropicales) donde son frecuentes las infecciones por enterovirus.

Es posible que los virus de la vacuna, en particular los tipos 2 y 3, muten en el curso de su multiplicación en niños vacunados. Sin embargo, sólo se han presentado casos muy raros de poliomielitis paralítica en receptores de la vacuna antipoliomielítica oral o en sus contactos cercanos (no más de un caso asociado con la vacuna por cada dos millones de personas vacunadas).

La vacuna trivalente oral por lo común se utilizó en Estados Unidos. Sin embargo, en el año 2000, el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomendó un cambio al empleo de sólo vacuna con virus inactivados de polio (cuatro dosis) en los niños estadounidenses. Se realizó el cambio en virtud del menor riesgo de que se produzca la enfermedad asociada con el virus natural resultado del avance continuo en la erradicación mundial del poliovirus. Este esquema disminuirá la incidencia de la enfermedad asociada con la vacuna y a la vez mantendrá la inmunidad individual y de la población contra los poliovirus.

La vacuna antipoliomielítica oral se esta utilizando en el programa de erradicación mundial y una vez que se logre, su empleo cesará. La continuación de su uso podría desencadenar el resurgimiento de la poliomielitis por mutación e incremento de la transmisibilidad y neurovirulencia del virus de la vacuna.

El embarazo no constituye una indicación ni una contraindicación para la inmunización necesaria. La vacuna de virus vivos no se debe administrar a personas inmunodeficientes o inmunodeprimidas o a sus contactos domésticos. En estos casos sólo se debe utilizar la vacuna de virus muertos (Salk).

No se dispone de antivirales para tratar la infección por poliovirus, y el tratamiento es sintomático. La inmunoglobulina puede brindar protección durante algunas semanas contra la enfermedad paralítica pero no previene la infección asintomática. La inmunoglobulina es eficaz sólo cuando se

administra poco antes de la infección; no tiene utilidad tras la aparición de los síntomas. La respuesta primaria de salud pública a la interrupción de la transmisión de casos reimportados es la vacunación en gran escala.

COXSACKIEVIRUS

Los coxsackievirus, un subgrupo importante de enterovirus, se clasifican en dos grupos, A y B, los cuales tienen diferentes potenciales patógenos en los ratones. En la actualidad se les clasifica dentro de los grupos A, B y C de HEV. Producen diversas enfermedades en el ser humano, entre ellas, meningitis aséptica y enfermedades febriles respiratorias e indiferenciadas. La herpangina (faringitis vesicular), el exantema viral de manos, pies y boca, y la conjuntivitis hemorrágica aguda son causados por determinados serotipos de coxsackievirus del grupo A; la pleurodinia (mialgias epidémicas), la miocarditis, la pericarditis y la enfermedad generalizada grave de los lactantes son causadas por algunos coxsackievirus del grupo B. Además de éstos, diversos serotipos de los grupos A y B pueden originar meningoencefalitis y parálisis. En general, la parálisis producida por los enterovirus diferentes al de la poliomielitis es incompleta y reversible. Los coxsackie virus del grupo B son los microorganismos causantes que se identifican más a menudo en personas con cardiopatía viral (cuadro 36-3). Los coxsackievirus tienden a ser más patógenos que los virus ECHO. Algunas de las cepas más recientes de los enterovirus muestran propiedades similares a las de los coxsackievirus.

Propiedades del virus

Los coxsackievirus son muy infecciosos en los ratones recién nacidos, en contraste con la mayor parte de los demás enterovirus humanos. Determinadas cepas (B1-6, A7, 9, 16 y 24) también se desarrollan en el cultivo de células renales del mono. Algunas cepas del grupo A se desarrollan en el amnios humano y en fibroblastos pulmonares de embriones humanos. El de tipo A14 produce lesiones parecidas a las de la poliomielitis en ratones adultos y en monos, pero sólo miositis en los ratones lactantes. Las cepas tipo A7 producen parálisis y lesiones graves del sistema nervioso central en los monos. Los virus del grupo A producen miositis generalizada en músculos esqueléticos de ratones recién nacidos, lo que produce parálisis flácida sin otras lesiones observables. La constitución genética de las cepas endogámicas de ratones determina su susceptibilidad al coxsackie virus B.

Patogenia y anatomía patológica

Se ha aislado el virus de la sangre en las primeras etapas de la infección natural en seres humanos. El virus también se encuentra en la faringe durante algunos días en las primeras fases de la infección y en las heces hasta por cinco a seis semanas. La distribución del virus es similar a la de los demás enterovirus.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de la infección por coxsackievirus es de dos a nueve días. Las manifestaciones clínicas de la infección con diversos coxsackievirus son diversas y pueden manifestarse como diferentes entidades patológicas (cuadro 36-3). Varían desde la enfermedad febril leve hasta enfermedades del sistema nervioso central, dermatológicas, cardiacas y respiratorias. Los ejemplos que se muestran no incluyen todo; diferentes serotipos pueden asociarse con un brote epidémico específico.

La **meningitis aséptica** es causada por todos los tipos de coxsackievirus del grupo B y por muchos coxsackievirus del grupo A, los más frecuentes son A7 y A9. La fiebre, el malestar, la cefalea, la náusea y el dolor abdominal son los síntomas iniciales frecuentes. La enfermedad a veces avanza a la debilidad muscular leve sugestiva de poliomielitis paralítica. Los pacientes casi siempre se restablecen por completo de una paresia que no se relaciona con poliovirus.

La **herpangina** es una faringitis febril grave causada por determinados virus del grupo A. Pese a su nombre, no tiene nada que ver con los herpesvirus. Hay un inicio brusco de fiebre y faringitis con vesículas circunscritas en la mitad posterior del paladar, la faringe, las amígdalas o la lengua. La enfermedad cede espontáneamente y es más frecuente en los niños pequeños.

El **exantema viral de manos**, **pies y boca** se caracteriza por ulceraciones bucales y faríngeas y un exantema vesicular de las palmas de las manos y las plantas de los pies que puede diseminarse a los brazos y las piernas. Las vesículas cicatrizan sin dejar costras, lo cual las distingue clínicamente de las vesículas de los herpesvirus y los virus que provocan exantemas. Esta enfermedad se ha asociado sobre todo con los coxsackievirus de tipo A16 pero también con el tipo B1 (y enterovirus 71). El coxsackievirus A6 también se ha erigido como causa de enfermedad grave de manos, pies y boca, en ocasiones seguida de caída de uñas. El virus puede aislarse no sólo de las heces y las secreciones faríngeas sino también del líquido vesicular. No debe confundirse con la fiebre aftosa vacuna, causada por un picornavirus no relacionado que normalmente no infecta al ser humano.

La **pleurodinia** (también conocida como mialgia epidémica) es causada por virus del grupo B. La fiebre y el dolor torácico lancinante suelen tener una instauración brusca pero a veces van precedidos de ataque al estado general, cefalea y anorexia. El dolor torácico puede persistir durante dos días a dos semanas. El dolor abdominal se presenta en casi la mitad de los casos y en los niños esto puede ser la principal molestia. La enfermedad se autolimita y el restablecimiento es completo, aunque las recaídas son frecuentes.

La **miocarditis** es una enfermedad grave. Es una inflamación aguda del corazón o de las membranas que lo cubren (pericarditis). Las infecciones por coxsackievirus B son una causa de miocarditis primaria en los adultos y en los niños. Alrededor de 5% de todas las infecciones sintomáticas por coxsackievirus producen cardiopatía. Las infecciones pueden ser mortales en los recién nacidos o pueden causar lesión cardiaca permanente a cualquier edad. Es posible que se presenten infecciones virales persistentes del músculo cardiaco, lo cual mantiene la inflamación crónica.

CUADRO 36-3 Enterovirus y parechovirus humanos y síndromes clínicos que suelen producir[a]

Síndrome	Enterovirus humanos A-D					
	Poliovirus Tipos 1 a 3	Coxsackievirus A Tipos 1 a 24	Coxsackievirus B Tipos 1 a 6	Virus ECHO Tipo 1 a 33	Enterovirus Tipos 68 a 116	Parechovirus Tipos 1 a 14
Neurológicos						
Meningitis aséptica	1 a 3	Muchos	1 a 6	Muchos	71	1
Parálisis	1 a 3	7, 9	2 a 5	2, 4, 6, 9, 11, 30	70, 71	3
Encefalitis		2.5 a 7.9	1 a 5	2, 6, 9, 19	70, 71	
Piel y mucosas						
Herpangina		2 a 6, 8, 10			71	
Exantema viral de manos, pies y boca		5, 10, 16	1		71	
Exantemas		Muchos	5	2, 4, 6, 9, 11, 16, 18		
Cardiacos y musculares						
Pleurodinia (mialgia epidémica)			1 a 5	1, 6, 9		
Miocarditis, pericarditis			1 a 5	1, 6, 9, 19		1
Ocular						
Conjuntivitis hemorrágica aguda		24			70	
Respiratorio						
Resfriados comunes		21, 24	1, 3, 4, 5	4, 9, 11, 20, 25		1
Neumonía			4, 5		68	1
Neumonitis de lactantes		9, 16			71	
Edema pulmonar						
Digestivos						
Diarrea		18.20 a 22.24[b]		Muchos[b]		1
Hepatitis		4, 9	5	4, 9		
Otros						
Enfermedad febril no diferenciada	1 a 3		1 a 6			
Enfermedad generalizada de los lactantes			1 a 5	11		
Diabetes mellitus			3, 4			

[a] Los ejemplos no abarcan todos los casos. Otros tipos de enterovirus pueden asociarse con una determinada enfermedad.

[b] No se ha establecido la causalidad.

Se calcula que los enterovirus producen 15 a 20% de las infecciones respiratorias, sobre todo en el verano y en el otoño. Diversos coxsackievirus se han relacionado con **resfriados comunes** y con **enfermedades febriles indiferenciadas**.

La **enfermedad generalizada de los lactantes** es una enfermedad extremadamente grave en la cual el lactante es agobiado por infecciones virales simultáneas de múltiples órganos, incluidos corazón, hígado y cerebro. La evolución clínica puede provocar rápidamente la muerte o en ocasiones el paciente se restablece por completo. La enfermedad es causada por coxsackievirus del grupo B. En los casos graves, la miocarditis o la pericarditis puede presentarse en los primeros ocho días de vida; algunas veces se presenta ante un episodio breve de diarrea y anorexia. En ocasiones la enfermedad se adquiere por vía transplacentaria.

Aunque el tubo digestivo es el principal lugar donde se replican los enterovirus, no producen ahí una enfermedad intensa. Determinados coxsackievirus del grupo A se han asociado con la **diarrea** en los niños, pero no se ha demostrado la causalidad.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento del virus

El virus se puede aislar de lavados faríngeos durante los primeros días de la enfermedad y de las heces durante las primeras semanas. En las infecciones por coxsackievirus A21 se encuentra la máxima cantidad de virus en las secreciones nasales. En los casos de meningitis aséptica, se han aislado cepas del líquido cefalorraquídeo y también del tubo digestivo. En los

casos de conjuntivitis hemorrágica, se aísla el virus A24 de exudados conjuntivales, exudados faríngeos y de las heces.

Las muestras se inoculan en cultivos de tejido y también en ratones lactantes. En el cultivo de tejido aparece un efecto citopático al cabo de cinco a 14 días. En los ratones lactantes, los signos de enfermedad suelen aparecer en las primeras dos semanas. Dadas las dificultades de la técnica, raras veces se intenta el aislamiento del virus en los ratones lactantes.

B. Detección de ácido nucleico

Los métodos para la detección directa de enterovirus proporcionan análisis rápidos y sensibles que son útiles para las muestras clínicas. Las pruebas de PCR con transcriptasa inversa son ampliamente reactivas (detectan muchos serotipos) o más específicas. Estos análisis ofrecen ventajas respecto a los métodos de cultivo celular, ya que muchas cepas clínicas de enterovirus tienen características de crecimiento difícil. Las pruebas de PCR en tiempo real tienen una sensibilidad equivalente a los análisis de PCR habituales, pero su realización es más sencilla.

C. Estudios serológicos

Los anticuerpos neutralizantes aparecen durante el curso de la infección, tienden a ser específicos para el virus infectante y persisten por años. También se pueden detectar anticuerpos séricos y titularse mediante la técnica inmunofluorescente. Los estudios serológicos son difíciles de evaluar (debido a la multiplicidad de tipos de virus) a menos que el antígeno utilizado en la prueba se haya aislado de un paciente específico o durante un brote epidémico.

Los adultos tienen anticuerpos contra más tipos de virus coxsackie que los niños, y ello denota que experiencias múltiples con tales partículas son frecuentes, situación que aumenta conforme la persona tiene más años de vida.

Epidemiología

Los virus del grupo coxsackie se han detectado en todo el mundo. Se han realizado aislamientos principalmente de heces humanas, exudados faríngeos y aguas residuales. Se detectan anticuerpos contra diversos coxsackievirus en el suero obtenido de personas de todo el mundo y en concentrados de inmunoglobulina.

Los tipos más frecuentes de coxsackievirus aislados en todo el mundo durante un periodo de ocho años (1967 a 1974) fueron los tipos A9 y B2 a B5. En Estados Unidos, de 1970 a 2005, las detecciones de coxsackievirus más frecuentes fueron los tipos A9, B2 y B4 en patrones endémicos y el tipo B5 en un patrón epidémico. Durante el lapso de 2006 a 2008 el tipo B1 se tornó el enterovirus predominante identificado en Estados Unidos. Sin embargo, en cualquier año o región, puede predominar otro tipo. Un patrón epidémico se caracteriza por fluctuaciones de las concentraciones circulantes, en tanto que un patrón endémico muestra bajas concentraciones estables en la circulación con algunas elevaciones.

Los coxsackievirus se aíslan con mucha más frecuencia en el verano y a principios del otoño. Los niños desarrollan anticuerpos en el verano, lo que indica infección por coxsackievirus durante este periodo. Estos niños tienen tasas de incidencia mucho más altas de enfermedades leves agudas, febriles, durante el verano que los niños que no desarrollan anticuerpos contra coxsackievirus.

La exposición familiar es importante en la adquisición de las infecciones por coxsackievirus. Una vez que se introduce el virus en un hogar, todas las personas susceptibles por lo general se infectan, aunque no todas presentan enfermedad clínicamente manifiesta.

Los coxsackievirus comparten muchas propiedades con otros enterovirus. Dadas las similitudes epidemiológicas, pueden presentarse diversos enterovirus juntos en la naturaleza, incluso en el mismo hospedador humano o las mismas especies de aguas residuales.

Control

En la actualidad no se dispone de vacunas o antivirales para la prevención o el tratamiento de las enfermedades causadas por coxsackievirus; se da tratamiento sintomático.

OTROS ENTEROVIRUS

Los virus ECHO (*e*nteric *c*ytopathogenic *h*uman *o*rphan virus), según su terminología histórica, fueron agrupados en forma conjunta porque infectan el intestino humano y porque pueden aislarse del ser humano sólo mediante la inoculación de determinados cultivos de tejidos. Se conocen más de 30 serotipos, pero no todos se han asociado con enfermedad humana. Las cepas más recientes se designan como enterovirus numerados. La meningitis aséptica, la encefalitis, las enfermedades febriles con o sin exantema, los resfriados comunes y la enfermedad ocular son algunas de las enfermedades causadas por virus ECHO u otros enterovirus.

Manifestaciones clínicas

Para establecer la asociación etiológica de un enterovirus con la enfermedad, se utilizan los siguientes criterios: 1) hay una tasa de aislamiento del virus mucho más elevada en pacientes con la enfermedad que en personas sanas de la misma edad y posición socioeconómica que viven en la misma zona en el mismo momento. 2) Los anticuerpos contra el virus aparecen durante el curso de la enfermedad. Si el síndrome clínico pudiera ser causado por otros microorganismos conocidos, las pruebas virológicas o serológicas deben ser negativas para la infección concomitante por tales microorganismos. 3) El virus se aísla de líquidos o tejidos corporales que presentan las lesiones, por ejemplo, del líquido cefalorraquídeo en los casos de meningitis aséptica.

Muchos virus ECHO se han asociado con meningitis aséptica. Los exantemas son más frecuentes en los niños pequeños. La diarrea infantil puede asociarse con algunos tipos, pero no se ha establecido causalidad. En el caso de muchos virus ECHO, no se han definido entidades patológicas.

El enterovirus 70 es la principal causa de **conjuntivitis hemorrágica aguda**. Se aisló de la conjuntiva de pacientes con esta enfermedad ocular notable, la cual se presentó en la forma pandémica en 1969 a 1971 en África y el sureste de Asia. La conjuntivitis hemorrágica aguda tiene una instauración súbita

de hemorragia subconjuntival. La enfermedad es más frecuente en los adultos con un periodo de incubación de un día y una duración de ocho a 10 días. El restablecimiento completo es la regla. El virus es muy transmisible y se disemina rápidamente bajo condiciones de hacinamiento o de falta de higiene.

Se ha aislado enterovirus 71 de pacientes con **meningitis**, **encefalitis** y **parálisis** que se parecen a la poliomielitis. Es una de las principales causas de la afectación del sistema nervioso central, que a veces es mortal, en todo el mundo. En 2008, en China, se presentó un brote epidémico de **exantema viral de manos**, **pies y boca** por enterovirus 71 y comprendió casi 4 500 casos y 22 decesos de lactantes y niños pequeños.

Con la eliminación virtual de la poliomielitis en los países desarrollados, los síndromes del sistema nervioso central asociados con coxsackievirus, virus ECHO y otros enterovirus, han asumido más importancia. Los últimos en los niños menores de un año pueden producir secuelas neurológicas y alteraciones mentales. Los enterovirus aislados de muestras fecales de pacientes con **parálisis flácida aguda** en Australia entre 1996 y 2004 comprendieron coxsackievirus A24 y B5; virus ECHO 9, 11 y 18; y enterovirus 71 y 75. El enterovirus 71 fue más frecuente.

Diagnóstico de laboratorio

Es imposible en un caso individual diagnosticar una infección por virus ECHO basándose en los datos clínicos. Sin embargo, en las siguientes situaciones epidémicas, se deben tomar en cuenta los virus ECHO: 1) brotes de meningitis aséptica en el verano y 2) epidemias en verano, sobre todo en niños pequeños, de una enfermedad febril con exantema.

El diagnóstico depende de las pruebas de laboratorio. Los análisis de detección de ácido nucleico, como PCR, son más rápidos que el aislamiento del virus para diagnóstico. Aunque quizá no se identifique el virus específico mediante PCR, a menudo no es necesario determinar el serotipo específico de enterovirus infectante asociado con una enfermedad.

El aislamiento del virus puede llevarse a cabo en frotis faríngeos, heces, frotis rectales y, en el caso de la meningitis aséptica, en el líquido cefalorraquídeo. Las pruebas serológicas no son prácticas, por los múltiples tipos virales distintos, excepto cuando se ha aislado un virus de un paciente o durante un brote de enfermedad clínica característica. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación son de tipos específicos y pueden persistir por años.

Si se aísla un microorganismo en cultivo de tejido, puede evaluarse comparando con diferentes reservorios de antisueros contra enterovirus. La determinación del tipo de virus presente es mediante pruebas inmunofluorescentes o de neutralización. La infección por dos o más enterovirus puede ocurrir en forma simultánea.

Epidemiología

La epidemiología de los virus ECHO es similar a la de otros enterovirus. Se presenta en todas partes del mundo y es más probable que se detecte en los pequeños que en los ancianos. En las zonas templadas, las infecciones ocurren principalmente durante el verano y el otoño y tienen una prevalencia casi cinco veces mayor en los niños de familias de bajos ingresos que en los que viven en circunstancias más favorables.

Los virus ECHO aislados con más frecuencia en todo el mundo durante el periodo de 1967 a 1974 fueron los tipos 4, 6, 9, 11 y 30. En Estados Unidos, de 1970 a 2005, los virus ECHO detectados más a menudo fueron los tipos 6, 9, 11, 13 y 30, junto con los coxsackievirus A9, B2, B4 y B5, así como enterovirus 71, y las enfermedades observadas con más frecuencia en estos pacientes fueron meningitis aséptica y encefalitis. Sin embargo, al igual que con todos los enterovirus, la diseminación de diferentes serotipos puede ocurrir en oleadas y diseminarse ampliamente.

Al parecer hay un grupo central de enterovirus constantemente circulantes que determinan la mayor parte de la morbilidad. Quince serotipos representaron 83% de los informes en Estados Unidos entre 1970 y 2005. Los niños menores de un año de edad representaron 44% de los casos de la enfermedad.

Los estudios de familias en los cuales se introdujeron los enterovirus, demostraron la facilidad con la cual estos microorganismos se diseminan y la elevada frecuencia de infección en las personas que no habían formado anticuerpos por exposiciones previas. Esto es aplicable a todos los enterovirus.

Control

Es recomendable que los niños muy pequeños eviten el contacto con pacientes que muestran la enfermedad febril aguda. No se dispone de antivirales o vacunas (a excepción de las vacunas contra la poliomielitis) para el tratamiento o la prevención de cualquier enfermedad por enterovirus.

ENTEROVIRUS EN EL MEDIO AMBIENTE

Los seres humanos son el único reservorio conocido para los miembros del grupo de los enterovirus humanos. Estos virus por lo general se eliminan por periodos más prolongados en las heces que en las secreciones del tubo digestivo alto. En consecuencia, la contaminación fecal (manos, utensilios, alimento, agua) es la vía habitual de la diseminación del virus. Se encuentran enterovirus en cantidades variables en las aguas residuales. Éstas constituyen una fuente de contaminación de los suministros de agua que se utilizan para beber, bañarse, riego, o actividades recreativas (figura 36-4). Los enterovirus sobreviven a la exposición de los tratamientos y la cloración de aguas residuales en la práctica, y los desechos humanos en gran parte del mundo son descargados en las aguas naturales que son objeto de un tratamiento mínimo o nulo. Los brotes epidémicos de enterovirus transmitidos por el agua son difíciles de reconocer y se ha demostrado que los virus pueden viajar largas distancias desde la fuente de contaminación y mantenerse infecciosos. La adsorción a materiales orgánicos y sedimentos protege a los virus de la inactivación y ayuda a su transporte. Se ha observado que los mariscos que se alimentan con filtros (ostiones, almejas, mejillones) concentran los virus del agua y, si no se cuecen de manera adecuada, pueden transmitir la enfermedad. Las normas bacteriológicas utilizando los índices coliformes fecales como una vigilancia de la calidad del agua probablemente no son un reflejo adecuado del potencial para transmitir la enfermedad viral.

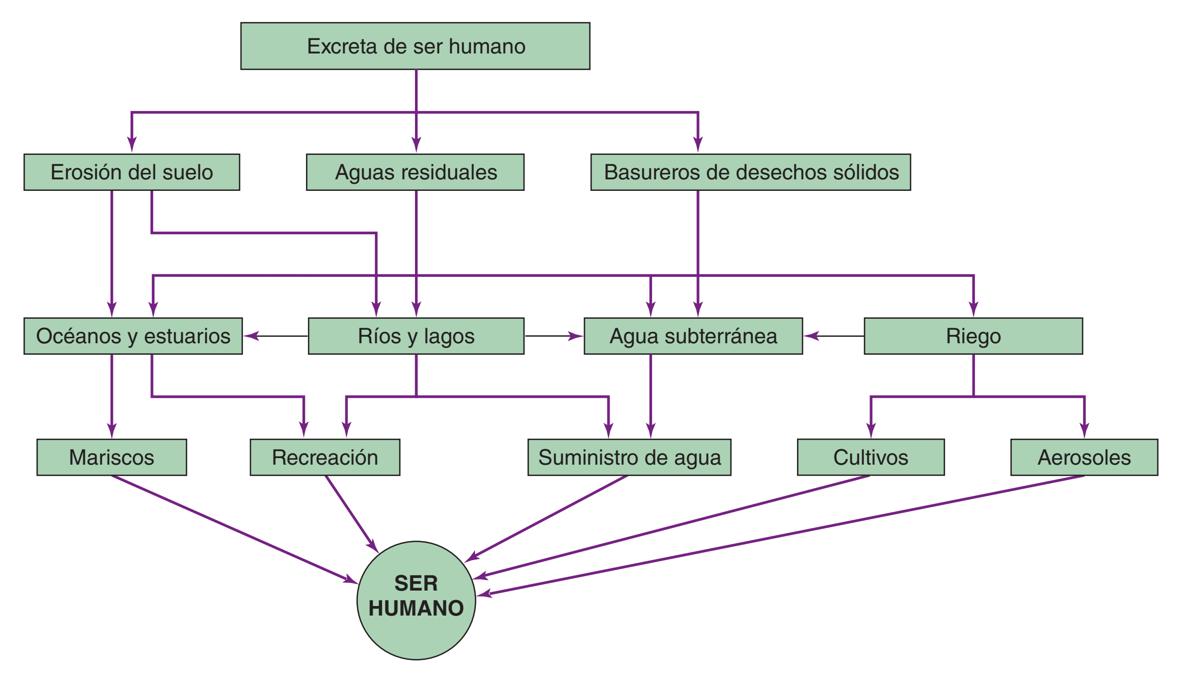


FIGURA 36-4 Rutas de la posible transmisión de virus intestinal en el medio ambiente. (Reproducida con autorización de Melnick JL, Gerba CP, Wallis C: Viruses in water. *Bull World Health Org* 1978;56:499.)

GRUPO DE LOS RINOVIRUS

Los rinovirus son los virus que causan el resfriado común. Son los microorganismos que se aíslan con mayor frecuencia en personas con enfermedades respiratorias altas leves. Suelen aislarse de secreciones nasales pero también de las secreciones faríngeas u orales. Estos virus, al igual que los coronavirus, adenovirus, enterovirus, virus de la parainfluenza y virus de la influenza, producen infecciones respiratorias altas, como el síndrome del resfriado común. Los rinovirus también son causa de casi la mitad de las exacerbaciones de asma.

Clasificación

Las cepas de rinovirus humanos se numeran en forma secuencial. Se conocen más de 150 especies. Las cepas dentro de una especie comparten una identidad de secuencia mayor de 70% con determinadas regiones codificadoras de proteína.

Los rinovirus humanos se pueden dividir en grupos de receptores mayores y menores. Los virus del grupo mayor utilizan la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule*) como receptor y los del grupo menor se unen a miembros de la familia del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR, *low-density lipoprotein receptor*).

Propiedades de los virus

A. Propiedades generales

Los rinovirus son picornavirus similares a los enterovirus pero difieren de ellos en que tienen una densidad de flotación en cloruro de cesio de 1.40 g/ml y en que son acidolábiles. Los viriones son inestables a un pH inferior de 5 a 6 y la inactivación completa ocurre a un pH de 3.0. Los rinovirus son más termoestables que los enterovirus y pueden sobrevivir horas en superficies ambientales.

La identidad de la secuencia de nucleótido en todo el genoma es mayor de 50% entre todos los rinovirus y entre los enterovirus y los rinovirus. Hay una mayor o menor identidad para regiones genómicas específicas.

En 2009, se determinó la secuencia de los genomas de todas las cepas conocidas de rinovirus, definiéndose regiones conservadas y divergentes. Esta información facilitará una nueva comprensión del potencial patógeno y del diseño de fármacos y vacunas antivirales.

B. Susceptibilidad de animales y desarrollo del virus

Estos virus son infecciosos sólo en seres humanos, gibones y chimpancés. Se pueden cultivar en diversas líneas celulares humanas, incluidas las líneas WI-38 y MRC-5. Los cultivos de órgano de hurones y de epitelio traqueal humano pueden ser necesarios para algunas cepas de cultivo difícil. La mayoría se desarrolla mejor a una temperatura de 33 °C, que es similar a la temperatura de la nasofaringe en el ser humano, que a 37 °C.

C. Propiedades antigénicas

Se conocen más de 150 serotipos. Los nuevos serotipos se basan en la falta de reactividad cruzada en las pruebas de neutralización que utilizan antisueros policlonales. En la actualidad se considera que el rinovirus humano 87 es el mismo serotipo que el enterovirus humano 68.

Patogenia y anatomía patológica

El virus entra en las vías respiratorias superiores. Los títulos altos de virus en las secreciones nasales, que pueden descubrirse

desde los dos a cuatro días después de la exposición, se asocian con enfermedad máxima. A partir de entonces, descienden los títulos, aunque persista la enfermedad. En algunos casos, los virus pueden permanecer detectables durante tres semanas. Existe una correlación directa entre la cantidad del virus en las secreciones y la gravedad de la enfermedad.

La replicación está limitada a la superficie del epitelio de la mucosa nasal. Las biopsias han demostrado que los cambios histopatológicos están circunscritos a la submucosa y al epitelio superficial. Éstos consisten en edema e infiltración celular leve. La secreción nasal aumenta en cantidad y en la concentración de proteínas.

Los rinovirus pocas veces producen infección de las vías respiratorias bajas en personas sanas, aunque se relacionan con la mayoría de las exacerbaciones agudas del asma. Los experimentos bajo condiciones controladas han demostrado que los escalofríos, lo que comprende el uso de ropas húmedas, no producen resfriado ni incrementan la susceptibilidad al virus. Los escalofríos constituyen un síntoma inicial del resfriado común.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es breve, de dos a cuatro días, y la enfermedad aguda suele persistir durante siete días aunque una tos no productiva puede persistir durante dos a tres semanas. El adulto promedio tiene uno a dos ataques cada año. Los síntomas habituales en los adultos comprenden estornudos, obstrucción nasal, secreción nasal y disfagia; otros síntomas son cefalea, tos leve, malestar y una sensación de frío. La fiebre es mínima o nula. La mucosa nasal y nasofaríngea se enrojece y se edematiza. No hay manifestaciones clínicas distintivas que permitan un diagnóstico etiológico de resfriados comunes causados por rinovirus frente a los resfriados causados por otros virus. La infección bacteriana secundaria puede producir otitis media aguda, sinusitis, bronquitis o neumonitis, sobre todo en los niños.

Inmunidad

El anticuerpo neutralizante contra el virus infeccioso se presenta en el suero y en las secreciones de la mayoría de las personas. Dependiendo de la prueba utilizada, las estimaciones de la frecuencia de respuesta han variado de 37 a más de 90 por ciento.

El anticuerpo se desarrolla siete a 21 días después de la infección; el momento de aparición de anticuerpos neutralizantes en las secreciones nasales es igual al de los anticuerpos en suero. Dado que el restablecimiento tras la enfermedad suele anteceder a la aparición de anticuerpos, parece que el restablecimiento no depende de anticuerpos. Sin embargo, los anticuerpos pueden lograr la eliminación final de la infección. Los anticuerpos séricos persisten durante años pero disminuyen los títulos.

Epidemiología

La enfermedad ocurre en todo el mundo. En las zonas templadas, las tasas de ataque son máximas a principios del otoño y a finales de la primavera. Las tasas de prevalencia son menores en verano. Los miembros de comunidades aisladas constituyen grupos muy susceptibles.

Se piensa que el virus es transmitido a través de contacto estrecho, por medio de secreciones respiratorias contaminadas con el virus. Los dedos de una persona con un resfriado común suelen estar contaminados y la transmisión a personas susceptibles ocurre entonces por la contaminación mano a mano, mano a ojo o mano a objeto (p. ej., la perilla de la puerta). Los rinovirus pueden sobrevivir durante horas en superficies ambientales contaminadas. La autoinoculación después de la contaminación de las manos es un mecanismo de diseminación más importante que mediante partículas transmitidas en el aire.

Las tasas de infección son máximas en los lactantes y en los niños y disminuyen conforme aumenta la edad. La unidad familiar constituye una fuente importante de diseminación de los rinovirus. La introducción del virus en general es atribuible a niños preescolares y de edad escolar. Las tasas de ataque secundario en la familia varían de 30 a 70%. Las infecciones en los niños pequeños son sintomáticas en tanto que las infecciones en los adultos suelen ser asintomáticas.

En una sola comunidad, múltiples serotipos de rinovirus producen brotes epidémicos de la enfermedad en una sola temporada y diferentes serotipos predominan durante diversas temporadas de las enfermedades respiratorias. Suele haber un número limitado de serotipos que producen enfermedad en un determinado momento.

Tratamiento y control

No se dispone de ningún método de prevención específico o tratamiento. Es improbable que se desarrolle una vacuna potente contra rinovirus debido a la dificultad para el desarrollo de títulos altos de rinovirus en cultivo, a la inmunidad fugaz y a la multiplicidad de serotipos que producen resfriados comunes.

Se piensa que los antivirales son una medida de control más factible para los rinovirus en virtud de los problemas inherentes al desarrollo de la vacuna. Muchos compuestos eficaces *in vitro* no han sido clínicamente eficaces.

GRUPO PARECHOVIRUS

Este género fue definido en la década de 1990 y contiene 16 tipos, de los cuales los 1 y 2 fueron originalmente clasificados como virus ECHO 22 y 23. Los parechovirus son muy distintos a los enterovirus y no tienen una secuencia proteínica mayor de 30% de identidad con la proteína correspondiente de otros picornavirus. La cápside contiene tres proteínas, ya que la proteína precursora VP0 no es escindida.

Las infecciones por parechovirus suelen adquirirse en las primeras etapas de la infancia. Los virus se replican en el sistema respiratorio y digestivo. Se ha comunicado que producen enfermedades similares a otros enterovirus, por ejemplo, enfermedades digestivas y respiratorias leves, meningitis y septicemia neonatal.

Entre 2006 y 2008 el parechovirus I de humanos constituyó uno de los 15 enterovirus identificados con mayor frecuencia. Sin embargo, es imposible detectar dicha partícula por métodos de identificación de ácido nucleico específico de enterovirus que se usan a menudo, de tal forma que sus señalamientos

son menores de la cifra real. Se dispone de métodos específicos de PCR para detectar parechovirus en muestras de pacientes.

FIEBRE AFTOSA (AFTOVIRUS DEL GANADO)

Esta enfermedad muy infecciosa de animales de pezuña hendida como el ganado vacuno, corderos, cerdos y vacas, es infrecuente en Estados Unidos pero es endémica en otros países. Puede transmitirse al ser humano por contacto o ingestión. En las personas, la enfermedad se caracteriza por fiebre, salivación y formación de vesículas en las mucosas de la bucofaringe y de la piel del pie.

El virus es un picornavirus típico y es acidolábil (las partículas son inestables en un pH menor de 6.8). Tiene una densidad de flotación en cloruro de cesio de 1.43 g/ml. Existen por lo menos siete tipos con más de 50 subtipos.

La enfermedad en los animales es muy contagiosa en las primeras etapas de la infección cuando hay viremia y cuando las vesículas en la boca y en los pies se rompen y liberan grandes cantidades de virus. El material excretado sigue siendo infeccioso por periodos prolongados. La tasa de mortalidad en los animales suele ser baja pero puede llegar a 70%. Los animales infectados se convierten en productores deficientes de leche y carne. Muchos ganados son focos de infección hasta por ocho meses. La inmunidad después de la infección tiene una duración breve.

Diversos animales son susceptibles a la infección y el virus se ha aislado por lo menos en 70 especies de mamíferos. La enfermedad típica puede reproducirse mediante la inoculación del virus en las almohadillas de las patas. Se han preparado vacunas tratadas con formalina a partir de virus desarrollados en cultivos de tejido, pero tales vacunas no producen inmunidad duradera. Se están desarrollando nuevas vacunas basadas en técnicas de DNA recombinante.

Los métodos de control de la enfermedad están regidos por su alto grado de contagiosidad y la resistencia del virus a la inactivación. En caso de que ocurriese un foco de infección en Estados Unidos, todos los animales expuestos son sacrificados y se eliminan sus cadáveres. Se establece una cuarentena estricta y se asume que la zona no es segura hasta que los animales susceptibles no presenten síntomas en un periodo de 30 días. Otro método es la cuarentena de la manada y vacunación de todos los animales no afectados. En otros países se han empleado satisfactoriamente esquemas de vacunación sistemáticos. En algunos países (p. ej., Estados Unidos y Australia) se prohíbe la importación de materiales potencialmente infecciosos como carne fresca, y la enfermedad se ha eliminado en estas zonas.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La familia Picornaviridae es grande y tiene muchos miembros.
- Los picornavirus son partículas que contienen RNA, monocatenarias, sin cubierta, y pequeñas que muestran replicación en el citoplasma.
- En promedio, se identifican 100 serotipos de enterovirus y 150 serotipos más de rhinovirus.
- Los principales patógenos del humano se incluyen en esta familia de virus, como son poliovirus, coxsackievirus, rhinovirus y otros enterovirus.
- Entre las enfermedades causadas por los miembros de tal familia están parálisis, meningitis aséptica, pleurodinia, miocarditis, hepatitis, lesiones cutáneas, enfermedades del aparato respiratorio, diarrea, fiebres, resfriados comunes, conjuntivitis y enfermedades graves de lactantes.
- Los rhinovirus causan el resfriado común.
- La contaminación fecal es el mecanismo usual de propagación de enterovirus; las fuentes pueden incluir agua, alimentos, manos y utensilios.
- Los rhinovirus son transmitidos por secreciones de vías respiratorias contaminadas por virus, y un mecanismo importante de propagación es la contaminación de las manos.
- La infección subclínica por enterovirus es mucho más frecuente que la enfermedad clínica.
- No se conocen reservorios animales de los enterovirus de humanos.
- Se cuenta con las vacunas antipoliomielíticas a base de virus muertos o virus vivos.
- Está en marcha un intento global para erradicar los poliovirus del planeta.
- La fiebre aftosa, una enfermedad grave y muy contagiosa de animales, es causada por un picornavirus inconexo clasificado dentro del género *Aphthovirus*.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre los rinovirus es correcta?
   (A) Hay tres tipos antigénicos
   (B) La amantadina protege contra la infección
   (C) No sobreviven en superficies ambientales
   (D) Son el microorganismo causal más frecuente del resfriado común
   (E) Comparten similitudes fisicoquímicas con los coronavirus
2. Un varón de 26 años de edad presenta miopericarditis con insuficiencia cardiaca congestiva leve que se incrementa en el curso de varias semanas. Se diagnostica una infección por coxsackievirus tipo B5. ¿Cuál de los siguientes síndromes clínicos no se relaciona con infecciones por coxsackievirus?
   (A) Herpangina
   (B) Miocarditis/pericarditis
   (C) Meningitis aséptica
   (D) Conjuntivitis hemorrágica aguda
   (E) Atrofia muscular progresiva posterior a la poliomielitis
3. Un niño de tres meses de edad presenta fiebre, inquietud y llanto inusual. Estos síntomas se acompañan de una letargia evidente. La exploración física muestra un lactante de aspecto normal con respuesta mínima a los estímulos. Con la punción lumbar se obtiene líquido cefalorraquídeo con 200 leucocitos/μl, con predominio de linfocitos. Se diagnostica meningitis aséptica aguda, probablemente causada por un enterovirus. Los enterovirus se caracterizan por
   (A) Latencia en los ganglios sensoriales y reactivación principalmente en los pacientes inmunodeprimidos

(B) Transmisión principalmente por la vía fecal-oral
(C) La presencia de una enzima DNA polimerasa
(D) La entrada en las células después de la unión al receptor ICAM-1
(E) Sufrir cambio antigénico y latencia

4. Se han utilizado vacunas de picornavirus durante varios decenios en la prevención de la enfermedad humana. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es correcta?
(A) La vacuna de poliovirus vivos atenuados produce resistencia en el tubo digestivo
(B) Hay una vacuna de microorganismos muertos eficaz contra los tres tipos principales de rinovirus
(C) La vacuna de poliovirus atenuados vivos induce la inmunidad protectora contra los virus coxsackie B íntimamente relacionados
(D) Ninguna de las vacunas de virus ECHO disponibles debe administrarse a pacientes inmunodeprimidos
(E) En la actualidad sólo se recomienda la vacuna de poliovirus vivos atenuados para utilizarse en Estados Unidos

5. Un mes después de haber salido de la escuela durante el verano, una joven de 16 años presenta fiebre, mialgias y cefalea. Se sabe que está ocurriendo en la población un brote epidémico de una enfermedad con síntomas similares causados por un virus ECHO. El lugar anatómico principal de la multiplicación del virus ECHO en el hospedador humano es
(A) El sistema muscular
(B) El sistema nervioso central
(C) El tubo digestivo
(D) El sistema sanguíneo y linfático
(E) El aparato respiratorio

6. ¿Cuáles de las siguientes propiedades de los enterovirus no son compartidas por los rinovirus?
(A) Genoma de RNA monocatenario
(B) Producción por escisión de proteínas virales a partir de un precursor de poliproteína
(C) Resistencia a solventes lípidos
(D) Estabilidad en pH ácido (pH 3.0)
(E) Simetría icosaédrica

7. Una persona con asma padece una exacerbación aguda con incremento de las enfermedades respiratorias inferiores. Se aísla un virus. ¿Cuál de los siguientes tipos de virus muy posiblemente será la cepa?
(A) Parainfluenza
(B) Parechovirus
(C) Rinovirus
(D) Virus sincicial respiratorio
(E) Virus ECHO

8. El empleo de la vacuna oral antipoliomielítica con microorganismos vivos se ha reemplazado con la vacuna de microorganismos inactivados en muchos países. ¿Cuál de los siguientes es el principal motivo?
(A) Es más rentable utilizar la vacuna inactivada
(B) Es mayor el riesgo de enfermedad provocada por la vacuna que la enfermedad provocada por virus natural en zonas donde se ha erradicado el poliovirus
(C) Es necesaria sólo una sola dosis de la vacuna inactivada en comparación con múltiples dosis de la vacuna oral
(D) Las cepas de poliovirus circulantes han cambiado y la vacuna de microorganismos vivos ya no es eficaz en muchos países

9. Los brotes de exantema viral de manos, pies y boca, caracterizados por úlceras bucales y exantemas vesiculares, se presentan y pueden producir muerte en el lactante. La enfermedad es causada por
(A) Virus de la fiebre aftosa de pie y boca
(B) Virus de la varicela
(C) Enterovirus que no son de la poliomielitis
(D) Rinovirus
(E) Virus de la rubéola

10. Los estudios epidemiológicos indican que un grupo central de enterovirus constantemente circula en Estados Unidos. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más exacta?
(A) Los miembros del grupo central muestran un patrón epidémico de brotes de la enfermedad
(B) El grupo comprende alrededor de la mitad de los enterovirus conocidos
(C) La enfermedad ocurre de manera predominante en adolescentes y adultos
(D) Los miembros del grupo se clasifican como virus coxsackie A y B
(E) Este grupo central determina la mayor parte de las enfermedades por enterovirus

11. Las afirmaciones siguientes respecto a los rhinovirus son correctas, *salvo*:
(A) Los rhinovirus constituyen uno de los patógenos que con mayor frecuencia causan el resfriado común.
(B) Los rhinovirus se multiplican mejor a 33 °C que a 37 °C; por tal razón, tienden a ocasionar enfermedad de la zona superior del aparato respiratorio y no en la zona inferior del mismo.
(C) Los rhinovirus son miembros de la familia de los picornavirus y se asemejan en su estructura y replicación, a los poliovirus.
(D) La inmunidad generada por la vacuna de rhinovirus es excelente porque existe solamente un serotipo.

12. La vacuna antipoliomielítica oral a base de virus vivos atenuados (OPV; *oral polio vaccine*) y la vacuna de virus inactivados (IPV; *inactivated polio vaccine*) se obtienen con facilidad. De las situaciones siguientes: ¿en cuál se prefiere utilizar OPV?
(A) Vacunación sistemática de lactantes
(B) Programas de vacunación en masa en áreas altamente endémicas de poliomielitis.
(C) Vacunación de adultos.
(D) Sujetos que reciben tratamiento inmunodepresor
(E) Contactos intrafamiliares de pacientes inmunocomprometidos.

13. De las afirmaciones siguientes respecto a la meningitis por enterovirus: ¿cuál es verdadera?
(A) Por lo común se puede contar con vacunas que protegen de la enfermedad
(B) La manifestación principal es la parálisis muscular
(C) La transmisión por lo común sigue la vía fecal-oral
(D) Los agentes causales no sobreviven satisfactoriamente en el entorno
(E) La recuperación rara vez es completa

14. El principal obstáculo para el control de las infecciones de la zona alta del aparato respiratorio por rhinovirus, por medio de vacunación es:
(A) La deficiente respuesta inmunitaria local y sistémica a los virus
(B) El gran número de serotipos de rhinovirus
(C) Los efectos adversos de la vacuna
(D) La incapacidad de que proliferen los virus en cultivo celular

apter 36_Carroll_4R.indd 529 15/04/16

15. Los siguientes síndromes clínicos se asocian con la infección por picornavirus, *excepto*:
    (A) Miocarditis o pericarditis
    (B) Hepatitis
    (C) Mononucleosis
    (D) Meningitis

Respuestas

1. D	5. C	9. C	13. C
2. E	6. D	10. E	14. B
3. B	7. C	11. D	15. C
4. A	8. B	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Chumakov K, Ehrenfeld E: New generation of inactivated poliovirus vaccines for universal immunization after eradication of poliomyelitis. *Clin Infect Dis* 2008;47:1587.

Enterovirus surveillance—United States, 1970-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(SS-8).

Harvala H, Simmonds P: Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. *J Clin Virol* 2009;45:1.

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.

Pallansch M, Roos R: Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Polio vaccines and polio immunization in the pre-eradication era: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol* Rec 2010;85:213.

Turner RB, Couch RB: Rhinoviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Whitton JL, Cornell CT, Feuer R: Host and virus determinants of picornavirus pathogenesis and tropism. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:765.

CAPÍTULO

37

Reovirus, rotavirus y calicivirus

Los reovirus son virus de tamaño mediano con un genoma de RNA segmentado bicatenario. La familia comprende rotavirus humano, la causa más importante de la gastroenteritis infantil en todo el mundo (figura 37-1). La gastroenteritis aguda es una enfermedad muy frecuente que tiene una repercusión importante en la salud pública. En los países en vías de desarrollo se estima que causa hasta 1.5 millones de muertes de niños preescolares cada año, de los cuales el rotavirus produce casi 600 000 decesos. En Estados Unidos la gastroenteritis aguda ocupa el segundo lugar después de las infecciones respiratorias agudas como causa de enfermedad en las familias.

Los calicivirus son virus pequeños con un genoma de RNA monocatenario. La familia contiene el virus de Norwalk (norovirus), la causa principal de gastroenteritis epidémica no bacteriana en todo el mundo. Los astrovirus también provocan gastroenteritis.

REOVIRUS Y ROTAVIRUS

En el cuadro 37-1 se resumen las propiedades importantes de los reovirus.

Estructura y composición

Los viriones miden 60 a 80 nm de diámetro y poseen dos cápsides concéntricas, cada una de las cuales es icosaédrica. (Los rotavirus tienen una estructura de tres capas.) No tienen envoltura. Los virus de una sola capa que carecen de la cápside externa tienen un diámetro de 50 a 60 nm. El centro interno de las partículas tiene un diámetro de 33 a 40 nm (figura 37-2). La partícula de doble cubierta es la forma completa infecciosa del virus.

El genoma del reovirus consta de un RNA bicatenario en 10 a 12 segmentos discretos con un genoma total de un tamaño de 16 a 27 kbp, lo que depende del género. Los rotavirus contienen 11 segmentos de genoma, en tanto que los ortorreovirus y los orbovirus poseen 10 segmentos y los coltivirus tienen 12. Los segmentos de RNA individuales tienen un tamaño variable desde 680 bp (rotavirus) hasta 3 900 bp (ortorreovirus). El centro del virión contiene varias enzimas necesarias para la transcripción y la incorporación del RNA viral en la cápside.

Los rotavirus se mantienen estables ante el calor a una temperatura de 50 °C, en un pH de 3.0 a 9.0 y en solventes de lípidos, como éter y cloroformo, pero son inactivados por etanol al 95%, fenol y cloro. El tratamiento limitado con enzimas proteolíticas incrementa la infecciosidad.

Clasificación

La familia **Reoviridae** se divide en 15 géneros. Cuatro de los géneros pueden infectar a seres humanos: *Orthoreovirus, Rotavirus, Coltivirus* y *Orbivirus.* Los géneros pueden dividirse en dos subfamilias: **Spinareovirinae** que contiene virus con grandes espigas en los 12 vértices sobre la partícula (p. ej., *Orthoreovirus*) en tanto que los miembros del **Sedoreovirinae** tienen un aspecto más liso y carecen de las grandes proyecciones en la superficie (p. ej., *Rotavirus*).

Existen por lo menos siete especies o grupos de rotavirus (A-G) más uno propuesto en fecha reciente (H), de los cuales tres especies (A, B, C) infectan a seres humanos. Las cepas de origen humano y animal pueden clasificarse bajo el mismo serotipo. Otros grupos y serotipos de rotavirus se encuentran sólo en animales. Se reconocen tres serotipos diferentes de reovirus, junto con unos 100 diferentes serotipos de orbivirus y dos de coltivirus.

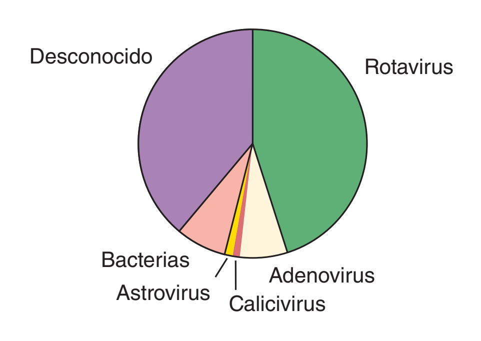
Replicación de reovirus

Las partículas virales se adhieren a receptores específicos en la superficie celular (figura 37-3). La proteína de adherencia celular para los reovirus es la hemaglutinina viral (proteínas σ1), un componente menor de la cápside externa.

Tras la adherencia y penetración, ocurre la pérdida de la envoltura de las partículas virales en los lisosomas del citoplasma celular. Sólo se retira la cubierta externa del virus y se activa una RNA transcriptasa asociada con el centro. Esta transcriptasa transcribe moléculas de mRNA de la cadena negativa de cada segmento de RNA bicatenario del genoma que contiene el centro intacto. Hay secuencias terminales cortas en los dos extremos de los segmentos de RNA que están conservadas en todas las cepas de un determinado subgrupo. Estas secuencias conservadas pueden ser señales de reconocimiento para la transcriptasa viral. Las moléculas de mRNA funcional corresponden en tamaño a los segmentos del genoma. La mayor parte de los segmentos de RNA codifican una sola proteína, aunque algunos (dependiendo del virus) codifican dos. Los centros de los reovirus contienen todas las enzimas necesarias para la transcripción, la incorporación en la cápside y la extrusión de los mRNA del centro, dejando en el interior segmentos de genoma de RNA bicatenario.

Una vez que experimentan extrusión desde el centro, los mRNA son traducidos en productos génicos primarios. Algunos de los transcritos de longitud completa son incorporados en la cápside para formar partículas virales inmaduras. Una

apter 37_Carroll_4R.indd 531 15/04/16



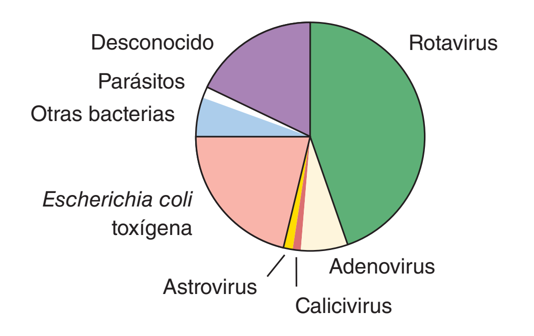


FIGURA 37-1 Una estimación de la participación de microorganismos causantes en las enfermedades diarreicas graves que exigen hospitalización de lactantes y niños pequeños. **A:** En los países desarrollados. **B:** En los países en vías de desarrollo. (Reproducida con autorización de Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. *JAMA* 1993;269:627.)

replicasa viral interviene en la síntesis de cadenas de polaridad negativa para formar los segmentos de genoma bicatenarios. Esta replicación para formar progenie de RNA bicatenario se presenta en estructuras centrales parcialmente completadas. Los mecanismos que aseguran el ensamble del complemento correcto de los segmentos de genoma para formar un centro viral en desarrollo se desconocen. Sin embargo, el reordenamiento del genoma ocurre rápidamente en células coinfectadas por diferentes virus del mismo subgrupo, lo que da origen a partículas virales que contienen segmentos de RNA de diferentes cepas progenitoras. Los polipéptidos virales probablemente se autoensamblan para formar las cápsides interna y externa.

Los reovirus producen cuerpos de inclusión en el citoplasma en el cual se encuentran las partículas virales. Estas fábricas virales están íntimamente relacionadas con las estructuras tubulares (microtúbulos y filamentos intermedios). La morfogénesis del rotavirus consiste en la gemación de partículas de una sola capa en el retículo endoplásmico rugoso. Las “seudoenvolturas” que se adquieren así son luego retiradas y se añaden las cápsides externas (figura 37-3). Esta vía inusual se utiliza debido a que la proteína principal de la cápside externa de los rotavirus es glucosilada.

La citólisis produce la liberación de viriones de progenie.

CUADRO 37-1 Propiedades importantes de los reovirus

Virión: Icosaédrico, de 60 a 80 nm de diámetro, doble envoltura de la cápside
Composición: RNA (15%), proteína (85%)
Genoma: RNA bicatenario, lineal, segmentado (segmentos de 10 a 12); tamaño total del genoma 16 a 27 kbp
Proteínas: Nueve proteínas estructurales: el centro contiene varias enzimas
Envoltura: Ninguna (la seudoenvoltura transitoria está presente durante la morfogénesis de la partícula de rotavirus)
Replicación: Citoplasma; viriones no descubiertos completamente
Características sobresalientes: El reordenamiento genético ocurre rápidamente Los rotavirus son la causa principal de diarrea infantil Los reovirus son buenos modelos de estudios moleculares de la patogenia viral

ROTAVIRUS

Los rotavirus son una causa importante de diarrea en lactantes humanos y en animales pequeños, incluidos terneras y lechones. Las infecciones en adultos humanos y en animales también son frecuentes. Entre los rotavirus están los que producen la diarrea infantil humana, la diarrea de la ternera de Nebraska, la diarrea epizoótica de los ratones lactantes y el virus SA11 de los monos.

Los rotavirus se parecen a los reovirus por sus características morfológicas y mecanismos de replicación.

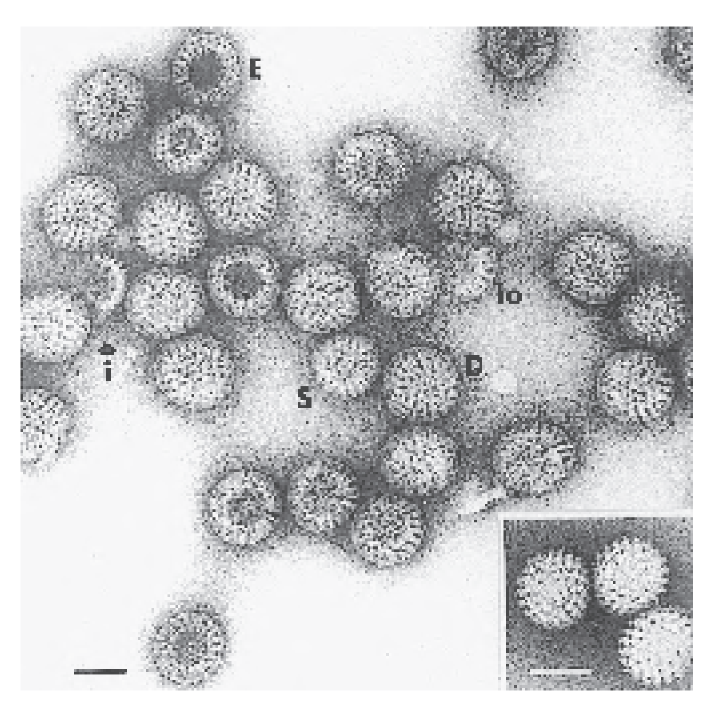


FIGURA 37-2 Microfotografía electrónica de una preparación de rotavirus humano con tinción negativa. (D, partículas de doble envoltura; E, cápsides vacías; i, fragmento de la envoltura interna; io, fragmentos de una combinación de envoltura interna y externa; S, partículas de envoltura simple.) **Recuadro:** Partículas de una sola envoltura obtenidas mediante tratamiento de la preparación viral con dodecilsulfato sódico. Barras, 50 nm. (Cortesía de J Esparza y F Gil.)

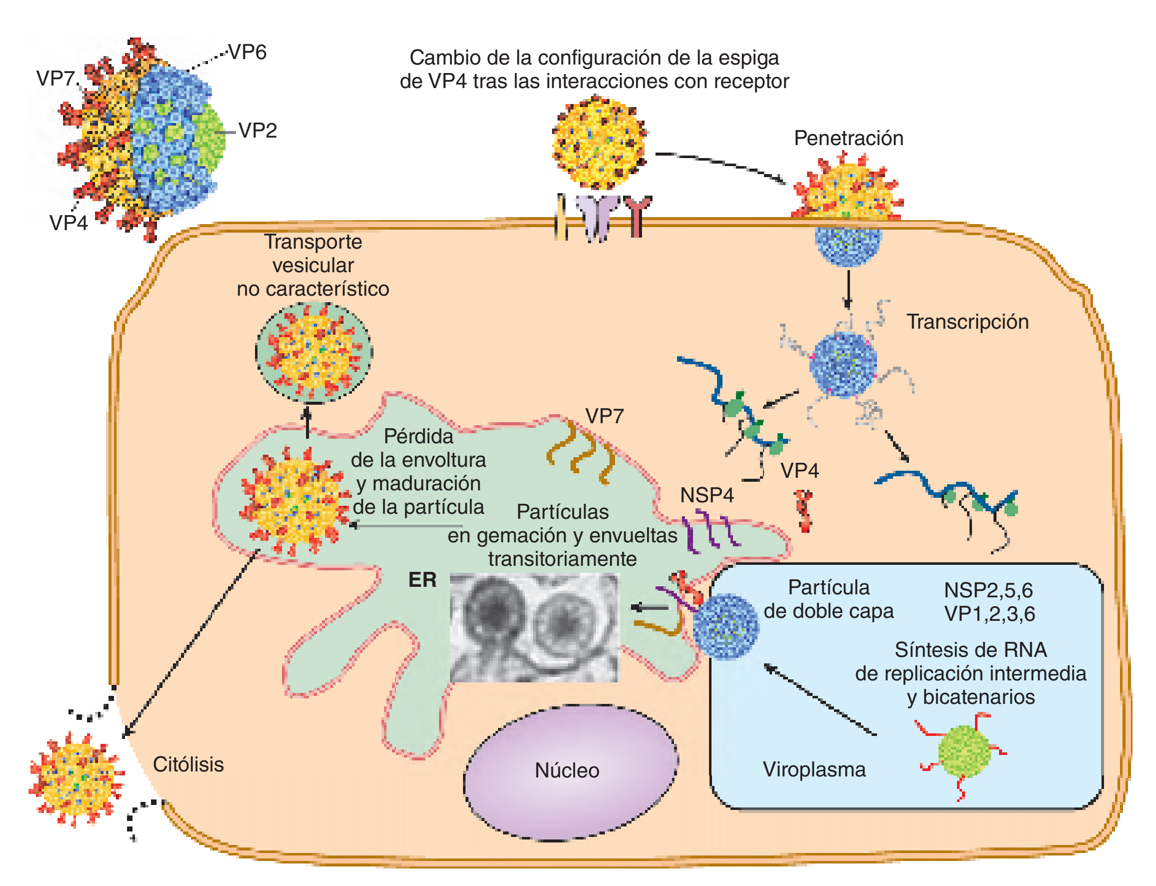


FIGURA 37-3 Generalidades del ciclo de replicación del rotavirus. ER, retículo endoplásmico. (Cortesía de MK Estes.)

Clasificación y propiedades antigénicas

Los rotavirus se han clasificado en siete especies (A a G) más una especie tentativa (H), basándose en epítopos antigénicos presentes en la proteína estructural interna VP6. Éstos se pueden detectar mediante inmunofluorescencia, análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent analysis*) y microscopia inmunoelectrónica (IEM, *immune electron microscopy*). Los rotavirus del grupo A son los virus patógenos humanos más frecuentes. Las proteínas de la cápside externa VP4 y VP7 portan epítopos que son importantes en la actividad neutralizante, de manera que la glucoproteína VP7 es el antígeno predominante. Estos antígenos tipo específicos diferencian a los rotavirus y son demostrables mediante análisis de neutralización. Cinco cepas de serotipos predominantes de especies A de rotavirus (G1 a G4 y G9) causan la mayor parte de enfermedad en personas. Las distribuciones de estos muestran diferencias geográficas. Se han identificado múltiples serotipos en rotavirus humanos y animales. Algunos rotavirus animales y humanos comparten especificidad de serotipo. Por ejemplo, el virus del mono SA11 es antigénicamente muy similar al serotipo 3 humano. Las asignaciones codificadoras de gen que intervienen en las especificidades estructurales y antigénicas de las proteínas de rotavirus se muestran en la figura 37-4.

Los estudios epidemiológicos moleculares han analizado cepas basándose en las diferencias en la migración de los 11 segmentos del genoma tras la electroforesis de RNA en geles de poliacrilamida (figura 37-5). Estas diferencias en los electroferotipos se pueden utilizar para diferenciar a los virus del grupo A de otros grupos, pero no se pueden emplear para predecir los serotipos.

Susceptibilidad de animales

Los rotavirus tienen una amplia gama de hospedadores. La mayor parte de las cepas se ha obtenido de animales recién nacidos con diarrea. Las infecciones cruzadas pueden presentarse en inoculaciones experimentales pero no está claro si ocurren en la naturaleza. Los rotavirus porcinos infectan a lechones recién nacidos y destetados. Los recién nacidos a menudo muestran una infección leve, lo cual tal vez se debe a presencia de anticuerpo materno, en tanto que en los animales destetados es más frecuente la enfermedad manifiesta.

Propagación en el cultivo celular

Los rotavirus son virus difíciles de cultivar. La mayor parte de los rotavirus humanos del grupo A pueden cultivarse si se tratan antes con la enzima proteolítica tripsina y si se incluyen bajas concentraciones de tripsina en el medio de cultivo del tejido. Esto desdobla una proteína de la cápside externa y facilita la pérdida de la envoltura. Se han cultivado muy pocas cepas de rotavirus que no pertenecen al grupo A.

Patogenia

Los rotavirus infectan las células de las vellosidades del intestino delgado (respetan la mucosa gástrica y la colónica). Se multiplican en el citoplasma de enterocitos y lesionan sus mecanismos

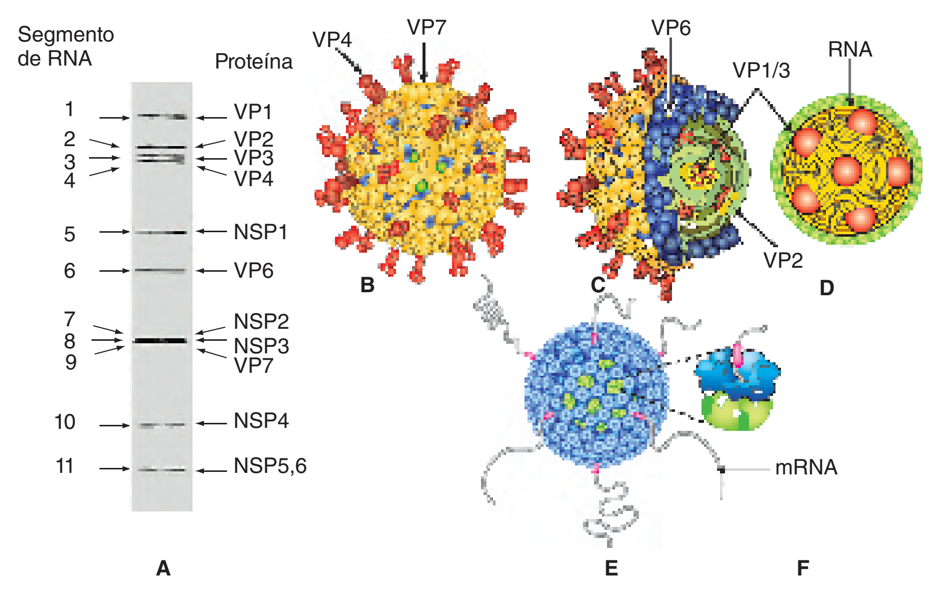


FIGURA 37-4 Estructura de rotavirus. **A:** Diagrama de gel que muestra los 11 segmentos del genoma. Las proteínas estructurales (VP) y no estructurales (NSP) codificadas por estos segmentos están señaladas. **B:** Representación de la superficie de la estructura del rotavirus en el análisis de microscopia crioelectrónica. Las dos proteínas de la capa externa son VP4, que forma las espigas, y VP7, que forma la capa de la cápside. **C:** Vista recortada que muestra la organización del virión en tres capas, con la capa VP6 intermedia y la capa VP2 más interna señaladas. Las enzimas necesarias para la transcripción endógena (VP1) y la encapsidación (VP3) están unidas como complejos heterodiméricos en la superficie interna de la capa de VP2. **D:** Se ilustra mediante esferas la organización propuesta del genoma de RNA bicatenario en el interior de la capa de VP2 con complejos enzimáticos de transcripción (VP1/3). **E:** Salida de transcritos de los canales en los vértices de cinco tantos de partículas de doble capa en transcripción activa. **F:** Acercamiento de uno de los canales de salida. (Cortesía de BVV Prasad.)

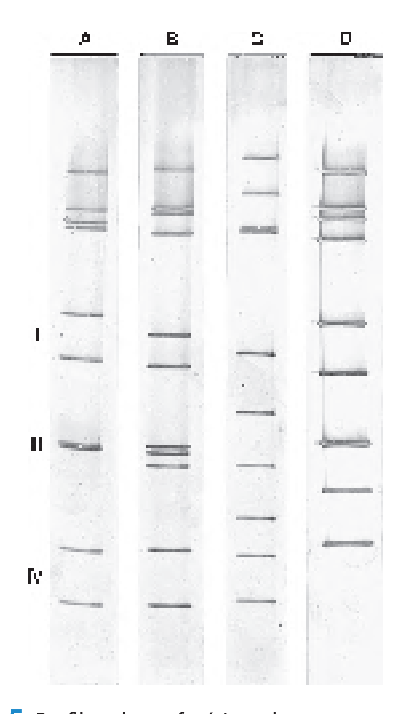


FIGURA 37-5 Perfiles electroforéticos de segmentos de RNA de rotavirus. Los RNA virales fueron sometidos a electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% y se visualizaron mediante tinción de plata. Se ilustran diferentes grupos de rotavirus y patrones de RNA: un virus de simio del grupo A (SA11; fila A), un rotavirus humano del grupo A (fila B), un virus de la diarrea del adulto humano del grupo B (fila C) y un virus del conejo del grupo A que muestra un patrón de RNA "corto" (fila D). Los rotavirus contienen 11 segmentos de RNA de genoma, pero a veces dos o tres segmentos emigran muy cerca entre sí y son difíciles de separar. (Fotografía proporcionada por T Tanaka y MK Estes.)

de transporte. Una de las proteínas codificadas por rotavirus, la NSP4, es una enterotoxina viral que induce la secreción al desencadenar una vía de transducción de señal. Las células lesionadas se desprenden hacia la luz del intestino y liberan grandes cantidades de virus, que aparecen en las heces (hasta 10^{12} partículas por gramo de heces). La excreción viral suele persistir durante dos a 12 días en pacientes por lo demás sanos pero puede prolongarse en individuos desnutridos e inmunocomprometidos. En ocasiones la diarrea por rotavirus se debe a alteraciones de la absorción de sodio y glucosa a medida que las células lesionadas en las vellosidades son reemplazadas por células inmaduras de las criptas que no absorben. El restablecimiento de la función puede tardar tres a ocho semanas.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico de laboratorio

Los rotavirus causan la mayor parte de las enfermedades diarreicas en los lactantes y niños en todo el mundo pero no en los adultos (cuadro 37-2). Hay un periodo de incubación de uno a tres días. Los síntomas característicos consisten en diarrea líquida, fiebre, dolor abdominal y vómito, lo que desencadena deshidratación.

En los lactantes y en los niños, la pérdida grave de electrólitos y líquidos puede ser mortal si no se trata. Los pacientes con casos más leves manifiestan síntomas durante tres a ocho días y luego se restablecen por completo. Sin embargo, la excreción viral en las heces puede persistir hasta por 50 días después de iniciada la diarrea. Se presentan infecciones asintomáticas con seroconversión. En los niños con inmunodeficiencias, el rotavirus puede causar una enfermedad grave y prolongada.

CUADRO 37-2 Virus relacionados con la gastroenteritis aguda en seres humanos[a]

Virus	Tamaño (nm)	Epidemiología	Importante como causa de hospitalización
Rotavirus			
Grupo A	60 a 80	Causa individual más importante (viral o bacteriana) de enfermedad diarreica grave endémica en los lactantes y niños pequeños en todo el mundo (en los meses más fríos y en los climas templados)	Sí
Grupo B	60 a 80	Brotes epidémicos de enfermedad diarreica en adultos y en niños en China y Sudeste de Asia	No
Grupo C	60 a 80	Casos esporádicos y brotes epidémicos esporádicos de enfermedad diarreica en los niños	No
Adenovirus intestinales	70 a 90	Segundo virus más importante como causa de la enfermedad diarreica endémica de lactantes y niños pequeños en todo el mundo	Sí
Calicivirus			
Norwalk (norovirus)	27 a 40	Causa importante de brotes de vómito y enfermedad diarreica en niños mayores y adultos en familias, poblaciones e instituciones; a menudo relacionadas con ingestión de alimentos	No
Sapporo	27 a 40	Casos y brotes esporádicos de diarrea en lactantes, niños pequeños y ancianos	No
Astrovirus	28 a 30	Casos y brotes esporádicos de diarrea en lactantes, niños pequeños y ancianos	No

Fuente: Kapikian AZ. Viral gastroenteritis. *JAMA* 1993;269:627.

Los contactos adultos pueden infectarse, según se pone de manifiesto por la seroconversión, pero pocas veces manifiestan síntomas, y el virus no es detectado con frecuencia en sus heces. Una fuente de infección frecuente es el contacto con casos pediátricos. Sin embargo, han ocurrido epidemias de enfermedad grave en los adultos, sobre todo en poblaciones cerradas como en las salas geriátricas. Los rotavirus del grupo B han sido implicados en grandes brotes epidémicos de gastroenteritis grave en adultos en China y sudeste de Asia (cuadro 37-2).

El diagnóstico de laboratorio se basa en la demostración del virus en las heces obtenidas en las primeras etapas de la enfermedad y en la elevación del título de anticuerpos. El virus en las heces se demuestra mediante enzimoinmunoanálisis (EIA) o microscopia inmunoelectrónica (IEM). La prueba de EIA es más sensible que la de IEM. El método de detección más sensible es la genotipificación del ácido nucleico del rotavirus obtenido de muestras de heces mediante reacción en cadena de la polimerasa. Se pueden utilizar las pruebas serológicas para detectar una elevación del título de anticuerpo, sobre todo ELISA.

Epidemiología e inmunidad

Los rotavirus son la causa más importante en todo el mundo de gastroenteritis en niños pequeños. Se estiman entre 3 000 y 5 000 millones de episodios de diarrea anuales en los niños menores de cinco años de edad en África, Asia y Latinoamérica, lo que produce hasta un millón de decesos. Los países desarrollados tienen una tasa de morbilidad elevada pero una tasa de mortalidad baja. Es característico que hasta 50% de los casos de gastroenteritis aguda en niños hospitalizados en todo el mundo se deba a rotavirus.

Las infecciones por rotavirus suelen predominar durante la temporada de invierno. Las infecciones sintomáticas son más frecuentes en los niños de entre seis meses y dos años de edad y la transmisión al parecer es por la vía fecal-oral. Las infecciones intrahospitalarias (nosocomiales) son frecuentes.

Los rotavirus son ubicuos. Hacia los tres años de edad, 90% de los niños tiene anticuerpos séricos contra uno o más tipos. Esta alta prevalencia de anticuerpos contra rotavirus se mantiene en los adultos, lo que señala reinfecciones asintomáticas por el virus. Las reinfecciones por rotavirus son frecuentes; se ha demostrado que los niños pequeños pueden sufrir hasta cinco reinfecciones a los dos años de edad. Las infecciones asintomáticas son más frecuentes con las reinfecciones sucesivas. Los factores inmunitarios locales, como la inmunoglobulina A (IgA) secretora o el interferón, pueden ser importantes para proteger contra la infección por rotavirus. Las infecciones asintomáticas son frecuentes en los lactantes antes de los seis meses de edad, el tiempo durante el cual debieran estar presentes los anticuerpos maternos protectores que los recién nacidos adquirieron en forma pasiva. Tal infección neonatal no evita la reinfección, pero protege contra la aparición de la enfermedad grave durante la reinfección.

Tratamiento y control

El tratamiento de la gastroenteritis es sintomático, para corregir la pérdida de agua y electrólitos que pueden desencadenar deshidratación, acidosis, choque y muerte del paciente. El tratamiento consiste en la reposición de líquidos y el restablecimiento del equilibrio electrolítico por vía intravenosa o por vía oral, como sea factible. La mortalidad infrecuente por diarrea infantil en los países desarrollados se debe al uso sistemático del tratamiento de reposición eficaz.

En vista de la vía de transmisión fecal-oral, el tratamiento de las aguas residuales y las mejoras en las condiciones sanitarias son medidas de control importantes.

En Estados Unidos en 1998 se autorizó una vacuna de rotavirus vivos atenuados sintetizada en macaco, la cual se administra por vía oral para los lactantes. Se retiró del comercio un año después debido a informes de invaginación intestinal (bloqueos del intestino) como un efecto secundario infrecuente pero importante asociado con la vacuna. En 2006, en Estados Unidos se autorizó una vacuna contra rotavirus, bovina, pentavalente a partir de virus vivos atenuados, que se administra por vía oral, seguida de la autorización de una vacuna humana de rotavirus, monovalente, con virus atenuados, que se administra por vía oral en 2008. Las dos vacunas son innocuas y

eficaces y ninguna se ha asociado con intosuscepción. Como sucede con otras vacunas vivas atenuadas, debería evitarse la inmunización de personas inmunocomprometidas o de miembros de su familia, dado que pueden causarles enfermedad. Una vacuna segura y eficaz sigue siendo la mejor esperanza para reducir la morbilidad de la infección por rotavirus en todo el mundo.

REOVIRUS

Se sabe que los virus de este género, que se han estudiado muy meticulosamente por biólogos moleculares, no producen enfermedad humana.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los reovirus son ubicuos y hay una amplia gama de hospedadores mamíferos, aviares y reptiles. Se han aislado tres tipos de reovirus diferentes pero relacionados que se han obtenido de muchas especies y se han demostrado mediante las pruebas de neutralización y de inhibición de hemaglutinación. Los reovirus contienen una hemaglutinina para eritrocitos O humanos o bovinos.

Epidemiología

Los reovirus causan muchas infecciones no manifiestas, ya que la mayoría de las personas tiene anticuerpos séricos al inicio de la edad adulta. Los anticuerpos también están presentes en otras especies. Los tres tipos se han aislado en niños sanos, en niños pequeños durante brotes de enfermedad febril leve, en niños con enteritis o enfermedades respiratorias leves y en chimpancés con rinitis epidémica.

Los estudios en voluntarios humanos no han logrado demostrar una relación de causa y efecto clara entre los reovirus y la infección humana. En voluntarios inoculados, se aíslan reovirus con mucha más facilidad en las heces que en la nariz o en la garganta.

Patogenia

Los reovirus se han convertido en sistemas modelo importantes para el estudio de la patogenia de la infección viral a nivel molecular. Se utilizan recombinaciones definidas de dos reovirus con diferentes fenotipos patógenos para infectar a los ratones. Luego se utiliza el análisis de segregación para asociar las características específicas de la patogenia con genes virales específicos y productos génicos. Las propiedades patógenas de los reovirus se determinan principalmente por la especie de proteína que se encuentra en la cápside externa del virión.

ORBIVIRUS Y COLTIVIRUS

Los orbivirus son un género en la familia de los reovirus. Suelen infectar insectos y muchos de los virus son transmitidos por los insectos a los vertebrados. Se conocen alrededor de 100 serotipos. Ninguno de estos virus causa enfermedad clínica importante en el ser humano, pero pueden ser causa de fiebres leves. Los virus patógenos en animales más importantes son el virus de la fiebre catarral ovina y el virus de la enfermedad equina africana. Se detectan anticuerpos contra orbivirus en muchos vertebrados, incluidos los seres humanos.

El genoma consta de 10 segmentos de RNA bicatenario, con un tamaño de genoma total de 18 kbp. El ciclo de replicación es similar al de los reovirus. Los orbivirus son sensibles al pH bajo, en contraste con la estabilidad general de otros reovirus.

Los coltivirus forman otra especie dentro de los ***Reoviridae***. La partícula del virus es de 80 nm de diámetro con un genoma que consta de 12 segmentos de RNA bicatenario, que suman un total de casi 29 kbp. El virus de la fiebre por garrapata de Colorado, transmitido por las garrapatas puede infectar al ser humano (véase capítulo 38). Se descubrió en el suroeste de Estados Unidos y puede causar fiebre, exantema y síntomas sistémicos en pacientes infectados.

CALICIVIRUS

Además de los rotavirus y los adenovirus no cultivables, los miembros de la familia ***Caliciviridae*** son agentes importantes de la gastroenteritis viral en el ser humano. Los miembros más notables son los norovirus, y la cepa prototípica es el virus Norwalk. En el cuadro 37-3 se resumen las propiedades de los calicivirus.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los calicivirus son similares a los picornavirus pero son un poco más grandes (27 a 40 nm) y contienen una sola proteína estructural mayor (figura 37-6). Muestran una morfología distintiva en el microscopio electrónico (figura 37-7). La familia Caliciviridae se divide en cinco géneros: *Norovirus,* que incluye a los virus de Norwalk; *Sapovirus,* que comprende los virus tipo Sapporo; *Nebovirus*, que comprende los virus bovinos entéricos; *Lagovirus,* el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo; y *Vesivirus,* que comprende el virus del exantema vesicular de los cerdos, el calicivirus de los felinos y los virus marinos que se detectan en pinípedos, ballenas y peces. Los

CUADRO 37-3 Propiedades importantes de los calicivirus

Virión: Icosaédrico, 27 a 40 nm de diámetro, depresiones caliciformes en la superficie de la cápside
Genoma: RNA monocatenario, lineal, de sentido positivo, no segmentado; tamaño de 7.4 a 8.3 kB; contiene genoma unido a proteínas (VPg)
Proteínas: Polipéptidos desdoblados a partir de una poliproteína precursora; la cápside está compuesta por una sola proteína
Envoltura: Ninguna
Replicación: Citoplasma
Características sobresalientes: Los norovirus son la causa principal de gastroenteritis epidémica no bacteriana Los virus humanos no son cultivables

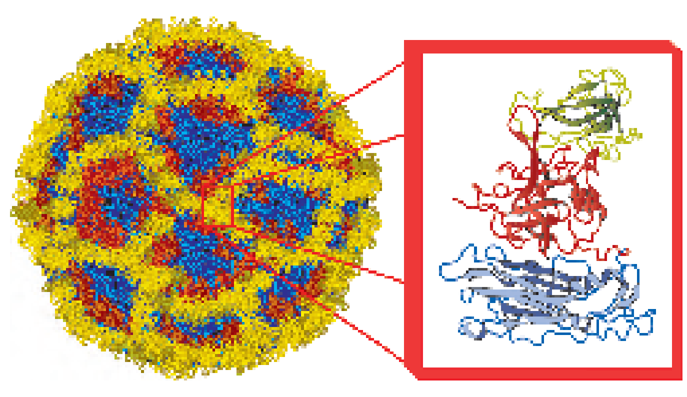


FIGURA 37-6 Estructura de rayos X de la cápside del virus de Norwalk (*izquierda*). Se ilustra la estructura de la subunidad de la cápside (*cuadro de la derecha*). Los dominios de S, P1 y P2 están sombreados en *azul*, *rojo* y *amarillo*, respectivamente. (Cortesía de BVV Prasad.)

primeros dos géneros contienen virus humanos que no se pueden cultivar; los últimos dos géneros contienen sólo cepas de animales que pueden cultivarse *in vitro*. En 1995 se introdujo en Australia el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo como un agente de control biológico para reducir la población de conejos silvestres en el país.

No están definidos los serotipos de calicivirus humano. Se han detectado múltiples genotipos de norovirus. Tres genogrupos se asocian con la gastroenteritis humana y se les ha designado GI, GII y GIV. Desde el 2001, los virus del genotipo GII.4 han causado a nivel mundial muchos de los brotes de gastroenteritis viral. Al parecer los norovirus experimentan desviación antigénica menor con el transcurso del tiempo, tal vez en reacción a la inmunidad poblacional.

Los receptores celulares de los norovirus son antígenos con grupo histohemático que se expresan en los epitelios en mucosas del aparato digestivo. El estado secretor de una persona es controlado por el gen de fucosiltransferasa 2; los individuos negativos (en cuanto a secretores) son resistentes a la infección por virus Norwalk.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico de laboratorio

Los norovirus (virus de Norwalk) son la causa más importante de gastroenteritis viral epidémica en los adultos (cuadro 37-2). La gastroenteritis no bacteriana epidémica se caracteriza por: 1) ausencia de bacterias patógenas; 2) gastroenteritis con instauración y restablecimiento rápidos y signos sistémicos relativamente leves, y 3) un patrón epidemiológico de una enfermedad muy transmisible que se disemina con rapidez y que no tiene una predisposición específica por lo que respecta a edad o geografía. Se han utilizado diversos términos descriptivos en los informes de diferentes brotes epidémicos (p. ej., gastroenteritis viral epidémica, diarrea viral, enfermedad de vómito invernal), lo que depende de manifestaciones clínicas predominantes.

La gastroenteritis viral de Norwalk tiene un periodo de incubación de 24 a 48 h. La instauración es rápida y la evolución clínica es breve, dura 12 a 60 h; los síntomas consisten en diarrea, náusea, vómito, febrícula, cólicos, cefalea y ataque al estado general. La enfermedad puede ser discapacitante durante la fase sintomática, pero pocas veces es necesaria la hospitalización. Las infecciones por norovirus tienen más posibilidades de desencadenar vómito que las producidas por los virus tipo Sapporo. La deshidratación es la complicación más frecuente en niños pequeños y en ancianos. La eliminación del virus puede persistir hasta por un mes. No se han comunicado secuelas.

Los experimentos en voluntarios claramente han demostrado que la aparición del virus de Norwalk coincide con la enfermedad clínica. El anticuerpo se desarrolla durante la enfermedad y suele ser protector a corto plazo contra la reinfección por el mismo microorganismo. La inmunidad a largo plazo no corresponde bien con los anticuerpos séricos presentes. Algunos voluntarios se pueden reinfectar con el mismo virus después de casi dos años.

La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa es la técnica que más ampliamente se utiliza para detectar calicivirus humanos en muestras clínicas (heces, vómito) y muestras ambientales (alimento contaminado, agua). Dada la diversidad genética en las cepas circulantes, es muy importante la selección del par de cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa. En el punto máximo de dispersión (dos a cinco días después de la infección), un gramo de heces tiene aproximadamente 100 000 millones de copias del genoma viral.

A menudo se utiliza la microscopia electrónica para detectar partículas de virus en muestras de heces. Sin embargo, las partículas de norovirus suelen presentarse en bajas concentraciones (a menos que la muestra haya sido recolectada en el pico de propagación del virus) y son difíciles de reconocer; se pueden identificar mediante IEM. Los inmunoanálisis con ELISA basados en partículas virales recombinantes permiten detectar respuestas de anticuerpos, con una elevación de cuatro veces o más en el título de anticuerpo IgG en los sueros de fases aguda y convaleciente indicativos de una infección reciente. Sin embargo, no se dispone en todas partes de los reactivos necesarios y los antígenos no pueden detectar las respuestas a todos los tipos antigénicos de norovirus.

Epidemiología e inmunidad

Los calicivirus humanos tienen una distribución mundial. Los norovirus son la causa más frecuente de gastroenteritis no bacteriana en Estados Unidos y producen alrededor de 21 millones de casos cada año.

Los virus muy a menudo se asocian con los brotes epidémicos de gastroenteritis transmitida por el agua, los alimentos y los mariscos. Pueden afectar a todos los grupos de edad. Ocurren brotes epidémicos durante todo el año con un pico estacional durante los meses más fríos. El medio de transmisión primario es la diseminación fecal-oral. La mayor parte de los brotes implica la transmisión en los alimentos o de persona a persona a través de los fómites o la formación de aerosoles de líquidos corporales contaminados (vómito, materia fecal). Los brotes son típicos en situaciones cerradas como cruceros, asilos y hogares para ancianos.

Las características de los norovirus son una baja dosis infecciosa (un mínimo de 10 partículas virales), la estabilidad relativa en el medio ambiente y múltiples mecanismos de

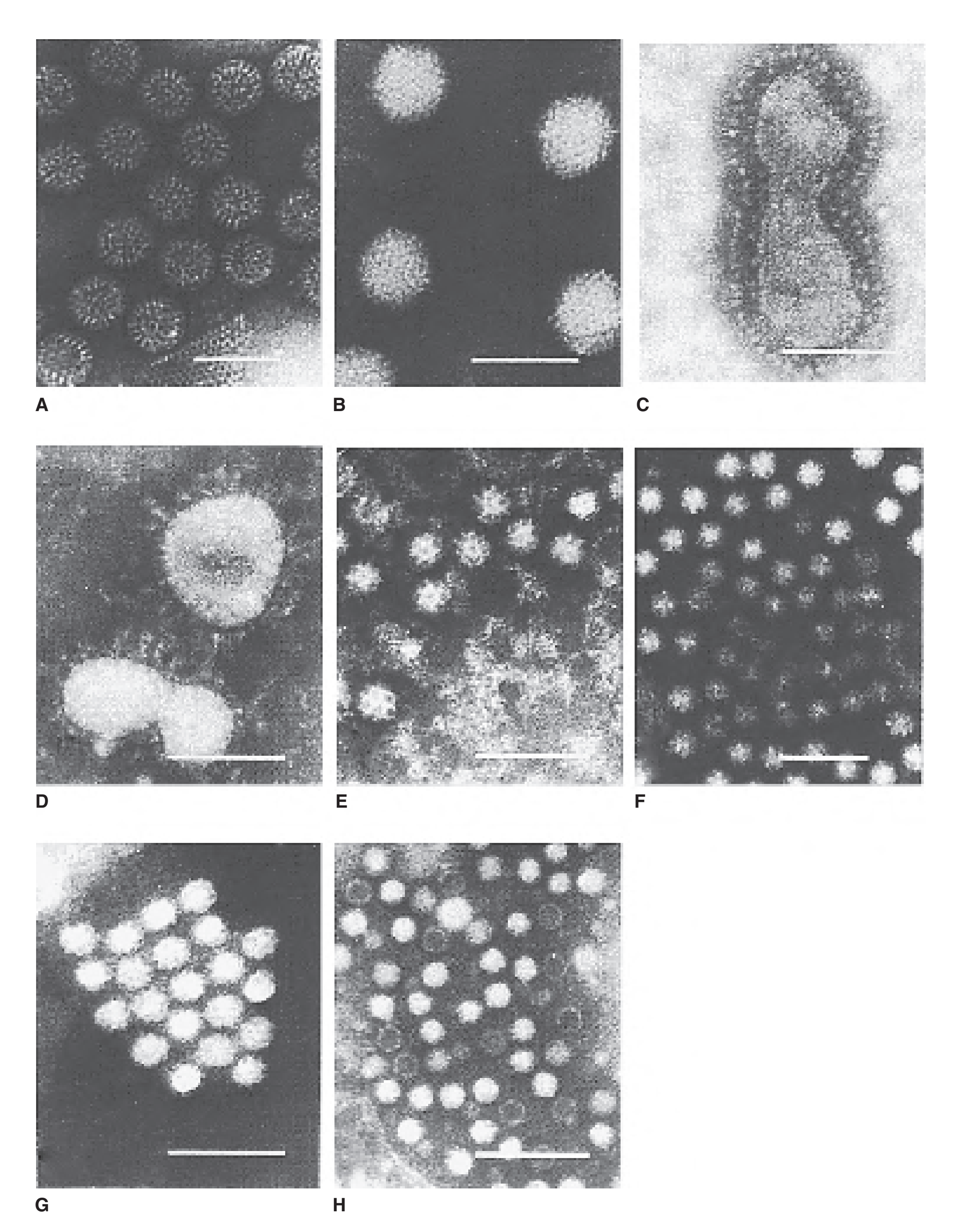


FIGURA 37-7 Microfotografía electrónica de partículas de virus que se encuentran en las heces de pacientes con gastroenteritis. Estos virus fueron visualizados después de la tinción negativa. Los virus específicos y las amplificaciones originales de las microfotografías son los siguientes. **A:** Rotavirus (185 000 ×). **B:** Adenovirus entérico (234 000×). **C:** Coronavirus (249 000×). **D:** Torovirus (coronavirus) (249 000×). **E:** Calicivirus (250 000×). **F:** Astrovirus (196 000×). **G:** Virus de Norwalk (calicivirus) (249 000×). **H:** Parvovirus (249 000×). Las microfotografías electrónicas en los cuadros C a H fueron proporcionadas originalmente por T Flewett; el cuadro E fue obtenido originalmente de CR Madeley. Barras, 100 nm. (Reproducida con autorización de Graham DY, Estes MK: Viral infections of the intestine. En *Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology*. Gitnick G *et al*. [editors]. Elsevier Science Co., 1988;566.)

transmisión. Sobrevive en cloro a 10 ppm y a temperaturas de 60 °C; se puede mantener en los ostiones al vapor.

No se dispone de ningún análisis de neutralización *in vitro* para estudiar la inmunidad. Los estudios de provocación en voluntarios han demostrado que casi 50% de los adultos es susceptible a la enfermedad. El anticuerpo del virus de Norwalk se adquiere a una mayor edad que el anticuerpo contra rotavirus, el cual aparece en las primeras etapas de la infancia. En los países en vías de desarrollo la mayoría de los niños ha formado anticuerpos contra norovirus a los cuatro años de edad.

Tratamiento y control

El tratamiento es sintomático. La baja dosis infecciosa permite la transmisión eficiente del virus. Es probable que el método más importante para evitar la infección y la transmisión de

norovirus sea el lavado de manos minucioso y eficaz. Dada la naturaleza infectante de las heces, hay que tener mucho cuidado con su eliminación. La contención y desinfección de zonas contaminadas y de la ropa de cama ayudan a disminuir la diseminación viral. Es importante el procesamiento cuidadoso de los alimentos así como la educación de las personas que manipulan alimentos, ya que ocurren muchos brotes transmitidos por los alimentos. La purificación del agua de beber y el agua de piscinas debiera disminuir los brotes de norovirus. No se dispone de ninguna vacuna.

ASTROVIRIDAE

Los astrovirus tienen un diámetro de casi 28 a 30 nm y muestran una forma estrellada distintiva en el microscopio electrónico (figura 37-7). Contienen RNA monocatenario de polaridad positiva, de 6.4 a 7.4 kb de tamaño. La familia **Astroviridae** incluye dos géneros; todos los virus humanos se clasifican en el género *Mamastrovirus.* Se reconocen por lo menos ocho serotipos de virus humanos a través de IEM y neutralización.

Los astrovirus causan enfermedad diarreica y pueden eliminarse en cantidades extraordinariamente grandes en las heces. Los virus son transmitidos por la vía fecal-oral a través del alimento o el agua contaminados, el contacto interpersonal o las superficies contaminadas. Se reconocen como microorganismos patógenos en lactantes y niños, ancianos internados en asilos y personas inmunocomprometidas (cuadro 37-2). Se pueden eliminar por periodos prolongados por los hospedadores inmunodeprimidos.

Se detectan astrovirus animales en diversos mamíferos y aves y en tiempos recientes se han identificado en varias especies de murciélagos. La prueba clínica para identificar astrovirus no es una práctica común, pero su detección puede conseguirse mediante microscopia electrónica, antígenos o RT-PCR.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los reovirus y los rotavirus tienen un genoma de RNA segmentado, bicatenario, sin cubierta.
- No se ha sabido que los reovirus causen enfermedad en humanos, pero constituyen modelos importantes para estudio de patogenia molecular.
- Los rotavirus constituyen la causa más importante de cuadros diarreicos en lactantes y niños de corta edad, a nivel mundial.
- La redisposición genética ocurre fácilmente con los rotavirus.
- Los calicivirus son partículas pequeñas sin cubierta, con un genoma de RNA no segmentado, monocatenario.
- Los norovirus, un género de los calicivirus, constituyen la causa principal de gastroenteritis epidémica no bacteriana a nivel mundial.
- Los rotavirus y los norovirus son transmitidos más bien por vía fecal-oral; los norovirus se han asociado con brotes de origen alimentario e hídrico.
- Se cuenta con vacunas orales a base de rotavirus vivos atenuados, y son innocuas y eficaces; no se cuenta con vacuna alguna contra los norovirus.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 36 años disfrutó una comida de ostiones crudos. Luego de 24 h se enfermó presentando bruscamente vómito, diarrea y cefalea. La causa más probable de su gastroenteritis es
   (A) Astrovirus
   (B) Virus de la hepatitis A
   (C) Virus de Norwalk
   (D) Rotavirus del grupo A
   (E) Virus ECHO
2. Este virus es la causa más importante de gastroenteritis en los lactantes y niños pequeños. Produce infecciones que suelen ser graves y que pueden ser letales, sobre todo en los lactantes.
   (A) Virus ECHO
   (B) Virus de Norwalk
   (C) Rotavirus del grupo A
   (D) Orbivirus
   (E) Parvovirus
3. Se presentó un brote de gastroenteritis epidémica en un campo de verano boscoso 24 h después de una fiesta para las familias visitantes. Algunos de los padres visitantes también se enfermaron. Se obtuvieron muestras dos semanas más tarde del pozo que era la fuente del agua para beber en el campo y resultaron negativas para coliformes fecales. El origen más probable del brote epidémico fue
   (A) Mosquitos o garrapatas, presentes en gran cantidad en la zona
   (B) Alimento contaminado que se sirvió en la fiesta
   (C) Un arroyo cercano utilizado para pesca
   (D) Un padre visitante que estaba presentando neumonía
   (E) La piscina
4. Este virus causante de la gastroenteritis tiene un genoma de RNA bicatenario y una cápside de doble capa. ¿A cuál familia de virus corresponde?
   (A) Adenoviridae
   (B) Astroviridae
   (C) Caliciviridae
   (D) Reoviridae
   (E) Coronaviridae
5. Los rotavirus y el virus de Norwalk son virus diferentes. Sin embargo, ¿cuál de las siguientes características comparten?
   (A) Transmisión por la vía fecal-oral
   (B) Son la causa principal de la enfermedad en los lactantes y en los niños pequeños
   (C) Provocan por lo general enfermedad leve en los niños pequeños
   (D) Los patrones de infección no muestran ninguna variación estacional
   (E) Un genoma de RNA bicatenario
6. Puesto que las infecciones por rotavirus pueden ser graves, sería útil una vacuna. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más correcta en torno a la vacuna contra rotavirus?
   (A) En Estados Unidos está autorizada una vacuna de rotavirus humano muerto del grupo A
   (B) En Estados Unidos se aprobó el uso de vacunas con base en virus vivos atenuados.
   (C) La aparición de la vacuna se complica por la rápida variación antigénica por el virus

(D) Los antivirales disponibles hacen que la vacuna sea innecesaria
(E) El desarrollo de la vacuna se complica porque no se puede desarrollar el virus en el cultivo celular

7. Los rotavirus y los astrovirus comparten diversas características. ¿Cuál de las siguientes no comparten?
(A) Existen múltiples serotipos
(B) Pueden causar gastroenteritis en lactantes y niños
(C) Pueden causar gastroenteritis en pacientes ancianos internados en asilos
(D) Vacuna de virus vivos disponible
(E) La vía de transmisión es fecal-oral

8. Varón de 20 años, que hizo una excursión turística durante tres semanas en Italia con otros universitarios. Un día repentinamente se sintió mal, y tuvo náuseas y vómitos; cinco horas después mostró cólicos abdominales y diarrea acuosa. No se percibió fiebre. De los virus que señalamos: ¿cuál es la causa más probable del cuadro patológico del joven?
(A) Calicivirus
(B) Rotavirus
(C) Reovirus
(D) Adenovirus
(E) Astrovirus

9. De las afirmaciones siguientes respecto a la gastroenteritis por rotavirus: ¿cuál es *falsa*?
(A) El nombre del agente causal fue sugerido por su aspecto
(B) Casi todas las 600 000 muertes estimadas que se producen a nivel mundial por tal enfermedad provienen de deshidratación
(C) Casi todos los casos de la enfermedad afectan lactantes y niños
(D) El agente causal infecta predominantemente el estómago
(E) La enfermedad es transmitida por la vía fecal-oral

10. La enfermedad por virus Norwalk podría ser evitada por cualquiera de las medidas siguientes, *salvo*:
(A) Evitar consumir frutas crudas
(B) Aplicación de vacuna elaborada con virus vivos reagrupados
(C) Lavado minucioso de manos
(D) No beber agua potable local
(E) Evitar el consumo de ostiones crudos

11. De las afirmaciones siguientes respecto a norovirus: ¿cuál es *falsa*?
(A) Causan casi la mitad de los casos de gastroenteritis por virus en Estados Unidos
(B) Pueden ser la causa de epidemias de gastroenteritis
(C) Por lo regular ocasionan una enfermedad que dura una a dos semanas
(D) Entre animales marinos, son muy comunes virus similares
(E) En forma típica ocasionan enfermedad en niños y adultos más que en lactantes

12. Cada una de las afirmaciones siguientes respecto a rotavirus es correcta, *excepto*:
(A) La vacuna de rotavirus contiene la polimerasa de RNA obtenida por bioingeniería como inmunógeno
(B) Los rotavirus son la causa principal de diarrea en niños de corta edad
(C) Los rotavirus son transmitidos predominantemente por la vía fecal-oral
(D) Los rotavirus pertenecen a la familia de reovirus que tienen un genoma de RNA segmentado bicatenario

Respuestas

1. C	4. D	7. D	10. B
2. C	5. A	8. A	11. C
3. B	6. B	9. D	12. A

BIBLIOGRAFÍA

Bresee JS, Nelson EA, Glass RI (guest editors): Rotavirus in Asia: Epidemiology, burden of disease, and current status of vaccines. *J Infect Dis* 2005;192 (Suppl 1). [Entire issue.]

Dennehy PH: Rotavirus vaccines: An overview. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:198.

Estes MK, Kapikian AZ: Rotaviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Green KY: *Caliciviridae*: The noroviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

McDonald SM, Patton JT: Assortment and packaging of the segmented rotavirus genome. *Trends Microbiol* 2011;19:136.

Monroe SS, Ando T, Glass RI (guest editors): International Workshop on Human Caliciviruses. *J Infect Dis* 2000;181(Suppl 12). [Entire issue.]

Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58(RR-2).

Rotavirus infection in Africa: Epidemiology, burden of disease, and strain diversity. *J Infect Dis* 2010;202(Suppl 1). [Entire issue.]

Rotavirus vaccines: An update. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:533.

Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1.

WHO position paper: Rotavirus vaccines. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2007;82:285.

CAPÍTULO

38

Enfermedades virales transmitidas por artrópodos y roedores

Los **virus transmitidos por artrópodos** (arbovirus) y **roedores** representan grupos ecológicos virales con ciclos de transmisión complejos en los que intervienen tales animales. Estos virus tienen diversas propiedades físicas y químicas y se clasifican en varias familias.

Los arbovirus y los virus transmitidos por roedores se clasifican entre las familias **Arenaviridae**, **Bunyaviridae**, **Flaviviridae**, **Reoviridae** y **Togaviridae**. Los virus de la fiebre hemorrágica africana se clasifican en la familia **Filoviridae** (cuadro 38-1, figura 38-1). Los padecimientos descritos aquí se consideran enfermedades infecciosas emergentes (capítulo 29).

Los arbovirus son transmitidos por los artrópodos que succionan sangre de un hospedador vertebrado a otro. El vector adquiere una infección de por vida a través de la ingestión de la sangre de un vertebrado virémico. Los virus se multiplican en los tejidos del artrópodo sin señales de enfermedad o daño. Algunos arbovirus se mantienen en la naturaleza por la transmisión transovárica en los artrópodos.

Las principales enfermedades por arbovirus en todo el mundo son fiebre amarilla, dengue, encefalitis B japonesa, de St. Louis, equina occidental, equina oriental, encefalitis transmitida por garrapatas, y fiebres del Nilo Occidental y por flebótomos. En Estados Unidos las infecciones por arbovirus más importantes son la encefalitis de La Crosse, la fiebre del Nilo Occidental y las encefalitis de St. Louis, equina oriental y equina occidental.

Las enfermedades virales transmitidas por roedores se mantienen en la naturaleza gracias a la transmisión directa dentro de la misma especie (intraespecífica) o entre especies diferentes (interespecífica) de roedores sin la participación de vectores artrópodos. La infección viral suele ser persistente, la transmisión ocurre por el contacto con los líquidos o excreciones del cuerpo.

Las principales enfermedades virales transmitidas por los roedores son las infecciones por hantavirus, fiebre de Lassa y las fiebres hemorrágicas sudamericanas. En Estados Unidos, las enfermedades más importantes transmitidas por roedores son el síndrome pulmonar por hantavirus y la fiebre por la garrapata de Colorado. También se consideran las fiebres hemorrágicas africanas (de Marburg y Ébola). Se desconocen sus hospedadores (reservorios), pero se sospecha que son roedores o murciélagos.

INFECCIONES POR ARBOVIRUS HUMANOS

Existen varios centenares de arbovirus de los cuales se sabe que alrededor de 100 son patógenos en el ser humano. Se cree que los arbovirus que lo infectan son zoonóticos y que el ser humano es un hospedador accidental sin ninguna función importante en el mantenimiento o la transmisión del ciclo del virus. Son excepciones la fiebre amarilla urbana y el dengue. Algunos de los ciclos naturales son simples e implican la infección de un hospedador vertebrado no humano (mamífero o ave) transmitido por una especie de mosquito o garrapata (p. ej., fiebre amarilla en la selva, fiebre de la garrapata de Colorado). Sin embargo, otros son más complejos; por ejemplo, la encefalitis transmitida por la garrapata puede presentarse tras la ingestión de leche cruda de cabras y vacas infectadas al pastar en lugares infestados por garrapatas donde se presenta un ciclo de garrapata-roedor.

Los virus individuales a veces se denominaban con base en la enfermedad que causaban (p. ej., dengue, fiebre amarilla) o por la zona geográfica donde se aislaron inicialmente (encefalitis de St. Louis, fiebre del Nilo Occidental). Los arbovirus se encuentran en todas las zonas templadas y tropicales, pero predominan en los trópicos donde abundan animales y artrópodos.

Las enfermedades producidas por los arbovirus pueden clasificarse en tres síndromes clínicos: 1) fiebres de tipo indiferenciado con o sin un exantema maculopapuloso y por lo general benignas; 2) encefalitis (inflamación del cerebro) a menudo con una tasa de mortalidad elevada, y 3) fiebres hemorrágicas, también a menudo graves y mortales. Estas categorías son un poco arbitrarias y algunos arbovirus pueden relacionarse con más de un síndrome (p. ej., dengue).

El grado de replicación viral y su lugar predominante de ubicación en los tejidos determinan el síndrome clínico. Por consiguiente, los arbovirus individuales pueden producir una enfermedad febril leve en algunos pacientes y encefalitis o una diátesis hemorrágica en otros.

Las infecciones por arbovirus se presentan en distribuciones geográficas y tipos de vectores distintos (figura 38-2). Cada continente tiene su propio tipo de arbovirus y los nombres suelen ser sugestivos, por ejemplo, la encefalitis equina

apter 38_Carroll_4R.indd 541 15/04/16

CUADRO 38-1 Clasificación y propiedades de algunos virus transmitidos por artrópodos y roedores

Taxonomía	Arbovirus importantes y miembros de virus transmitidos por roedores	Propiedades de los virus
Arenaviridae		
Género *Arenavirus*	Nuevo Mundo: Chapare, Guanarito, Junin, Machupo, Sabia y Arroyo de Whitewater. Virus del Viejo Mundo: de Lassa, de Lujo, y de la coriomeningitis linfocítica. Transmitidos por roedores	Esférico, de 50 a 300 nm de diámetro (media de 110 a 130 nm). Genoma: RNA monocatenario, de doble segmentación, de polaridad negativa y bipolaridad, de 10 a 14 kb de tamaño global. El virión contiene una transcriptasa. Cuatro polipéptidos principales. Envoltura, replicación: citoplasma. Ensamble: incorpora ribosomas y produce gemación desde la membrana plasmática
Bunyaviridae		
Género *Orthobunyavirus*	Anófeles A y B, virus Bunyamwera, de la encefalitis de California, Guama, La Crosse, Oropouche y de Turlock. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	Esférico, de 80 a 120 nm de diámetro. Genoma: triple segmentado, de polaridad negativa o bipolaridad, RNA monocatenario, 11 a 19 kb de tamaño total. El virión contiene una transcriptasa. Cuatro polipéptidos principales. Envoltura. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación hacia el aparato de Golgi
Género *Hantavirus*	Virus de Hantaan (fiebre hemorrágica coreana), virus de Seúl (fiebre hemorrágica con síndrome renal). Virus sin nombre (síndrome pulmonar por hantavirus). Transmitido por roedores	
Género *Nairovirus*	Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, fiebre de los corderos de Nairobi y virus de Sakhalin. Transmitido por artrópodos (garrapatas)	
Género *Phlebovirus*	El virus de Heartland, el de Lone Star y el de la fiebre del Valle del Rift, el flebovirus (*Phlebotomus*), el virus de la fiebre grave con síndrome de trombocitopenia (SFTSV) y el virus de Uukuniemi. Transmitidos por artrópodos (mosquitos, flebótomos, garrapatas)	
Filoviridae		
Género *Marburgvirus*	Virus de Marburg	Filamentos largos, de 80 nm de diámetro y longitud variable (>10 000 nm), aunque la mayor parte tiene un promedio aproximado de 1 000 nm. Genoma: RNA de polaridad negativa, no segmentado, monocatenario, de 19 kb de tamaño. Siete polipéptidos. Envoltura. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación de la membrana plasmática
Género *Ebolavirus*	Virus de Ébola	
Flaviviridae		
Género *Flavivirus*	Virus de encefalitis brasileña (virus de Rocío), del dengue, de la encefalitis japonesa B, enfermedad de la selva de Kyasanur, encefalitis ovina, encefalitis del Valle de Murray, fiebre hemorrágica de Omsk, encefalitis rusa de la primavera y el verano, Powassan virus, encefalitis de St. Louis, fiebre del Nilo Occidental y virus de la fiebre amarilla. Transmitidos por artrópodos (mosquitos, garrapatas)	Esférico, de 40 a 60 nm de diámetro. Genoma: polaridad positiva, RNA monocatenario, de 11 kb de tamaño. RNA de genoma infeccioso. Envoltura. Tres polipéptidos estructurales, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamble: en el retículo endoplásmico. Todos los virus están relacionados serológicamente
Reoviridae		
Género *Coltivirus*	Virus de la fiebre de la garrapata de Colorado. Transmitidos por artrópodos (garrapatas, mosquitos)	Esférico, de 60 a 80 nm de diámetro. Genoma: 10 a 12 segmentos de RNA lineal bicatenario, de 16 a 27 kbp de tamaño total. Sin envoltura. Diez a 12 polipéptidos estructurales. Replicación y ensamble: citoplasma (cap. 37)
Género *Orbivirus*	Virus de la enfermedad del caballo africano y de la lengua azul. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	
Togaviridae		
Género *Alphavirus*	Virus de Chikungunya, de la encefalitis equina oriental, occidental y venezolana, virus de Mayaro, de O'Nyong-nyong, del Río Ross, de la selva de Semliki y de Sindbis. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	Esférico, de 70 nm de diámetro, la nucleocápside tiene 42 capsómeros. Genoma: RNA de polaridad positiva, monocatenario, de 11 a 12 kb de tamaño. Envoltura. Tres o cuatro polipéptidos estructurales importantes, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación en todas las membranas de la célula hospedadora. Todos los virus están relacionados serológicamente.

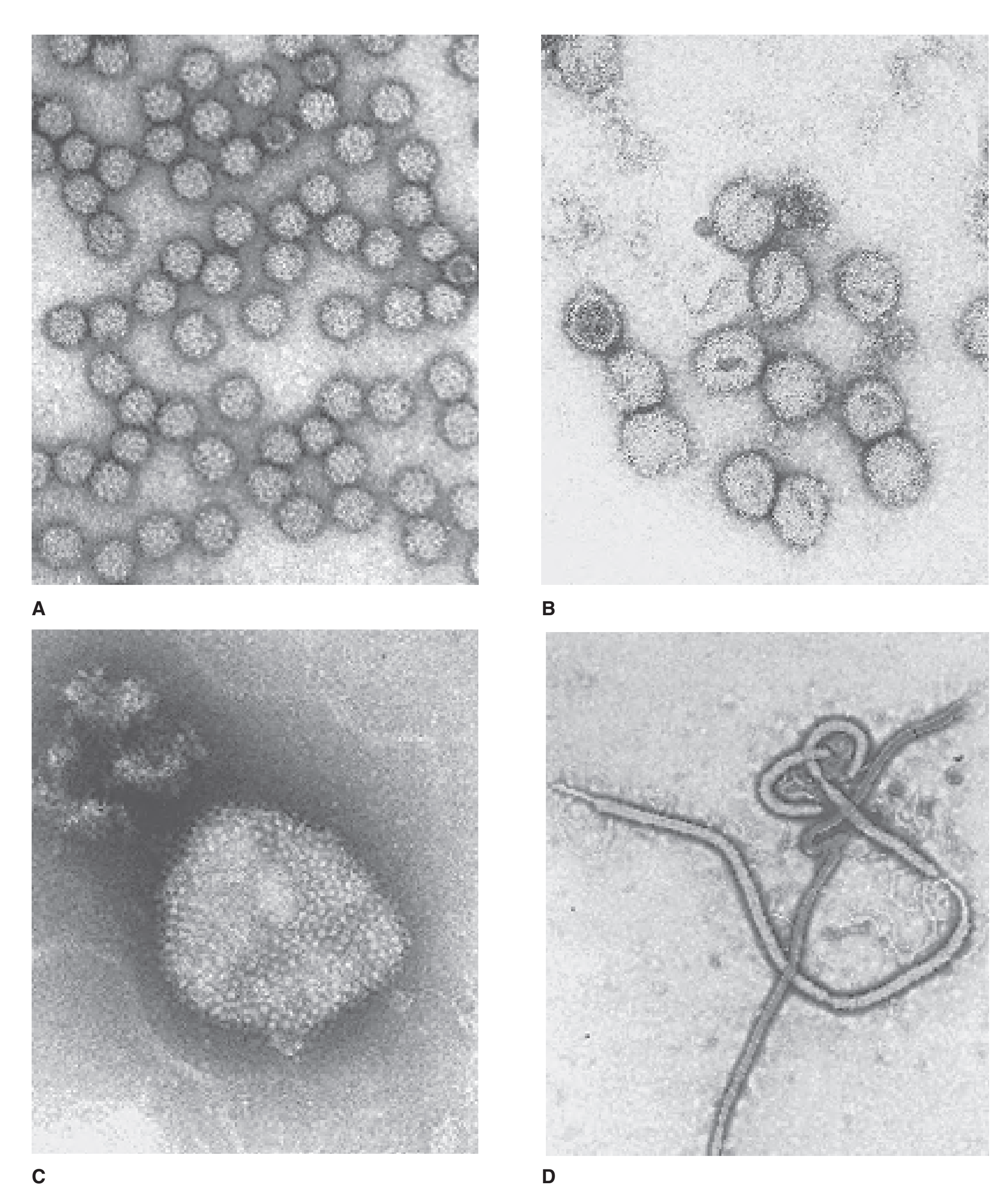


FIGURA 38-1 Microfotografías electrónicas de arbovirus característicos y virus transmitidos por roedores. **A:** Un virus α. Virus del bosque de Semliki (Togaviridae). **B:** Un miembro representativo de la familia Bunyaviridae, el virus de Uukuniemi. **C:** Un arenavirus, virus de Tacaribe (Arenaviridae). **D:** Virus de Ébola (Filoviridae). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

venezolana, la encefalitis B japonesa, la encefalitis del Valle de Murray (Australia). Muchas encefalitis son infecciones por alfavirus y flavivirus diseminadas por mosquitos, aunque el grupo de las encefalitis de California se deben a bunyavirus. En un determinado continente puede haber una distribución cambiante, lo que depende de los hospedadores virales y los vectores en un determinado año.

Varios arbovirus producen infecciones humanas importantes en Estados Unidos (cuadro 38-2). El número de casos varía mucho de un año a otro.

ENCEFALITIS POR TOGAVIRUS Y FLAVIVIRUS

Clasificación y propiedades de los togavirus y los flavivirus

En la familia togaviridae, el género *Alphavirus* consta de unos 30 virus de 70 nm de diámetro que poseen un genoma de RNA monocatenario de cadena positiva (cuadro 38-1). La envoltura que rodea a la partícula contiene dos glucoproteínas (figura 38-1).

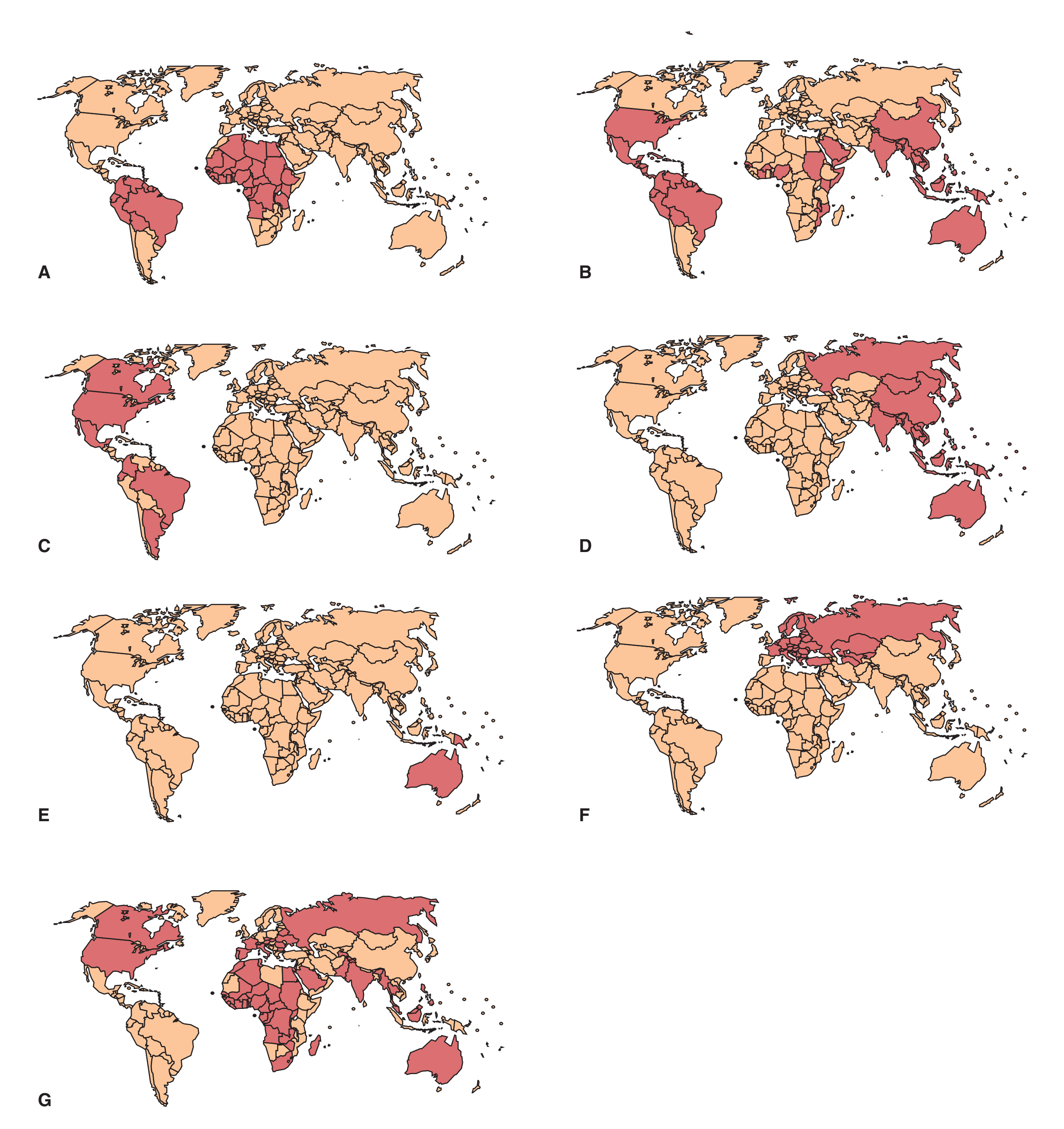


FIGURA 38-2 Distribuciones conocidas de flavivirus que producen enfermedad humana. **A:** Virus de la fiebre amarilla. **B:** Virus del dengue. **C:** Virus de la encefalitis de St. Louis. **D:** Virus de la encefalitis japonesa B. **E:** Virus de la encefalitis del Valle de Murray. **F:** Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. **G:** Virus del Nilo Occidental. (Reproducida con autorización de Monath TP, Tsai TF: Flaviviruses. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. *Clinical Virology,* 2a. ed. Washington CS: ASM Press, 2002 ©2002 American Society for Microbiology. No está permitida la reproducción adicional o distribución sin permiso escrito previo de la American Society for Microbiology.)

Los alfavirus suelen establecer infecciones persistentes en los mosquitos y son transmitidos entre los vertebrados por los mosquitos u otros artrópodos que se alimentan de sangre. Tienen distribución mundial. Todos los alfavirus tienen relación antigénica. Los virus son inactivados por un pH ácido, calor, solventes lípidos, detergentes, blanqueadores, fenol, alcohol al 70% y formaldehído. La mayor parte posee capacidad hemaglutinante. El virus de la rubéola, clasificado en un género separado en la familia Togaviridae no tiene vector artrópodo y no es un arbovirus (capítulo 40).

La familia Flaviviridae la conforman alrededor de 70 virus de 40 a 60 nm de diámetro, con genoma de RNA monocatenario de sentido positivo. Al principio, los flavivirus fueron incluidos en la familia togavirus como "arbovirus del grupo B", pero fueron desplazados a una familia distinta por diferencias en la organización del genoma. La envoltura viral contiene dos glucoproteínas. Algunos flavivirus son transmitidos entre los vertebrados por mosquitos y garrapatas, en tanto que otros son transmitidos entre roedores o murciélagos sin ningún insecto vector conocido. Muchos tienen una distribución

CUADRO 38-2 Resumen de infecciones humanas importantes por virus transmitidos por arbovirus y roedores que ocurren en Estados Unidos

Enfermedades[a]	Exposición	Distribución	Vectores principales	Cociente de casos de infección (incidencia de edad)	Secuelas[b]	Tasa de mortalidad (%)
Encefalitis equina oriental (*Alphavirus*)	Rural	Atlántico, costa del sur	*Aedes, Culex*	10:1 (lactantes) 50:1 (edad mediana) 20:1 (ancianos)	+	30 a 70
Encefalitis equina occidental (*Alphavirus*)	Rural	Pacífico, montañas, suroeste	*Culex tarsalis, Aedes*	50:1 (menos de 5 años) 1 000:1 (más de 15 años)	+	3 a 7
Encefalitis equina venezolana (*Alphavirus*)	Rural	Sur (también Sudamérica y Centroamérica)	*Aedes, Psorophora Culex*	25:1 (menos de 15 años) 1 000:1 (más de 15 años)	±	Muertes infrecuentes
Encefalitis de St. Louis (*Flavivirus*)	Urbana-rural	Dispersa	*Culex*	800:1 (menos de 9 años) 400:1 (9 a 59 años) 85:1 (más de 60 años)	±	3 a 10 (menos de 65) 30 (más de 65)
Fiebre del Nilo Occidental (*Flavivirus*)	Urbana-rural	Dispersa	*Culex, Aedes, Anopheles*	5:1 (fiebre) 150:1 (encefalitis)	±	3 a 15
Encefalitis de California (La Crosse) (*Orthobunyavirus*)	Rural	Norcentral, Atlántico, sur	*Aedes triseriatus*	Cociente desconocido (la mayor parte de los casos en menos de 20 años)	Infrecuentes	Alrededor de 1
Síndrome pulmonar por hantavirus (*Hantavirus*)	Rural	Suroeste, occidente	*Peromyscus maniculatus*[c]	15:1	Infrecuentes	30 a 40
Fiebre de la garrapata de Colorado (*Coltivirus*)	Rural	Pacífico, montañas	*Dermacentor andersoni*	Cociente desconocido (todas las edades son afectadas)	Infrecuentes	Decesos infrecuentes

[a] Mostrado entre paréntesis bajo el nombre de la enfermedad aparece el género en el cual se clasifican los virus causantes. Las familias de los virus están indicadas y descritas en el cuadro 38-1.

[b] Secuelas: +, frecuentes: ±, esporádicas.

[c] Portador roedor; no vector

mundial. Todos los flavivirus tienen una relación antigénica. Los flavivirus son inactivados también al alfavirus y muchos también muestran una capacidad de hemaglutinación. El virus de la hepatitis C, clasificado en un género diferente en la familia Flaviviridae, no tiene un vector artrópodo y no es un arbovirus (capítulo 35).

Replicación de togavirus y flavivirus

El genoma de RNA del alfavirus es de cadena positiva (figura 38-3). La longitud genómica y los mRNA subgenómicos (26S) se producen durante la transcripción. El transcrito de longitud genómica produce una poliproteína precursora que codifica las proteínas no estructurales (es decir, replicasa, transcriptasa) necesarias para la replicación de RNA viral. El mRNA subgenómico codifica a las proteínas estructurales. Las proteínas son elaboradas por desdoblamiento postraduccional. Los alfavirus se replican en el citoplasma y maduran mediante nucleocápsides en gemación a través de la membrana plasmática. Los datos de la secuencia indican que el virus de la encefalitis equina occidental es una recombinación genética de virus de la encefalitis equina oriental y de Sindbis.

El genoma de RNA del flavivirus también es de cadena positiva. Una proteína precursora de gran tamaño es producida por mRNA de longitud del genoma durante las replicaciones virales; es desdoblada por proteasas virales y del hospedador para generar todas las proteínas virales, tanto las estructurales como las no estructurales. Los flavivirus se replican en el citoplasma y ocurre el ensamble de partículas en las vesículas intracelulares (figura 38-4). La proliferación de las membranas intracelulares es una característica de las células infectadas por flavivirus.

Propiedades antigénicas de togavirus y flavivirus

Todos los alfavirus están relacionados de manera antigénica. Debido a las determinantes antigénicas comunes, los virus muestran reacciones cruzadas en las técnicas inmunodiagnósticas. Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination-inhibition*) enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) y de inmunofluorescencia (IF, *immunofluorescence*) definen ocho complejos antigénicos o serogrupos de alfavirus, cuatro de los

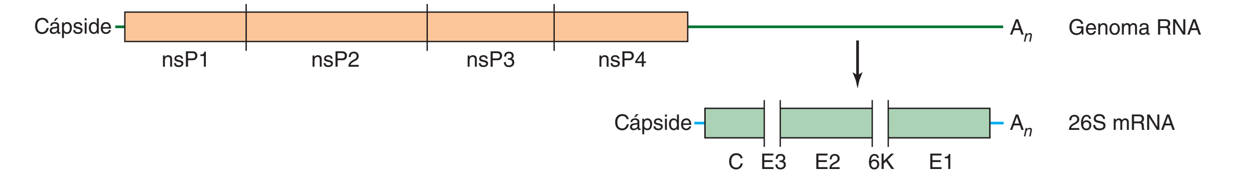


FIGURA 38-3 Organización genómica de los alfavirus. Las proteínas no estructurales (nsP) están traducidas del RNA genómico como una poliproteína que es concentrada en cuatro proteínas no estructurales por una proteasa viral presente en nsP2. Las proteínas estructurales se traducen de un mRNA 26S subgenómico como una poliproteína que es procesada por una combinación de proteasas virales y celulares hacia una proteína de la cápside (C), tres glucoproteínas de envoltura (E3, E2 y E1) y una proteína asociada a la membrana 6K. C, E2 y E1 son los principales componentes de los viriones y están sombreados en la figura. (Reproducida con autorización de Strauss JH, Strauss EG, Kuhn RJ: Budding of alphaviruses. *Trends Microbiol* 1995; 3:346.)

cuales están tipificados por las encefalitis: equina occidental, equina oriental, equina venezolana y por el virus de la selva de Semliki. La identificación de un virus específico puede lograrse utilizando las pruebas de neutralización. Asimismo, todos los flavivirus comparten lugares antigénicos. Se han identificado, como mínimo, ocho complejos antigénicos con base en métodos de neutralización en busca de alfavirus y 10 complejos serológicos para reconocer flavivirus. La proteína de la envoltura (E) es la hemaglutinina viral y contiene las determinantes de grupo, serocomplejas y específicas de tipo. Las comparaciones de la secuencia del gen de la glucoproteína E muestran que los virus en un serocomplejo comparten más de 70% de las secuencias de aminoácido, en tanto que la homología de aminoácidos a través de los serocomplejos es menos que 50 por ciento.

Patogenia y anatomía patológica

En los hospedadores vertebrados susceptibles, la replicación viral primaria ocurre en las células mieloides y linfoides o en el endotelio vascular. La multiplicación en el sistema nervioso central (SNC) depende de la capacidad del virus para cruzar la barrera hematoencefálica e infectar las células nerviosas. En la infección natural de aves y mamíferos, es habitual una infección asintomática. Por varios días ocurre una viremia y los vectores artrópodos adquieren el virus al succionar la sangre durante este periodo; el primer paso en su diseminación a otros hospedadores.

La enfermedad en los animales de experimentación permite aclarar múltiples aspectos de la enfermedad en seres humanos. Se han utilizado ratones para estudiar la patogenia

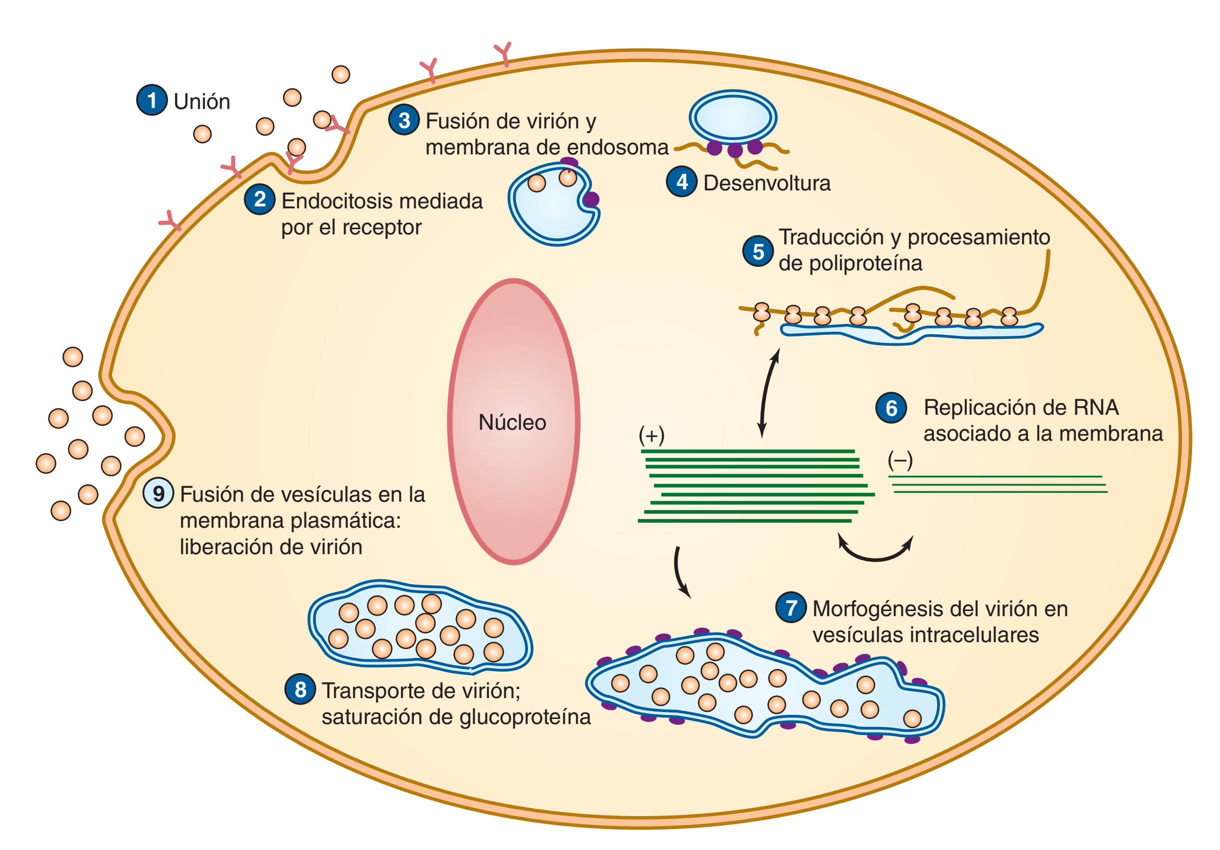


FIGURA 38-4 Ciclo de vida de los flavivirus. (Cortesía de CM Rice.)

de la encefalitis. Tras la inoculación subcutánea, la replicación del virus ocurre en los tejidos locales y en los ganglios linfáticos regionales. El virus entra luego en la circulación sanguínea y se disemina. Con base en el compuesto específico, los diferentes tejidos respaldan más la replicación del virus, lo que comprende monocitos-macrófagos, células endoteliales, pulmón, hígado y músculos. El virus cruza la barrera hematoencefálica por mecanismos desconocidos, que tal vez afectan neuronas olfativas o células vasculares del cerebro y se disemina. La degeneración neuronal dispersa ocurre en todas las encefalitis provocadas por arbovirus.

En la mayor parte de las infecciones, el virus se controla antes que ocurra la invasión neurológica. La invasión depende de muchos factores, como el grado de viremia, los antecedentes genéticos y respuestas inmunitarias innatas y adaptativas del hospedador, así como de la virulencia de la cepa del virus. Los seres humanos muestran una susceptibilidad a las infecciones del SNC dependiente de la edad; los lactantes y los ancianos son los más susceptibles.

Las encefalitis equinas en los caballos son difásicas. En la primera fase (enfermedad leve), el virus se multiplica en tejido no neural y está presente en la sangre varios días antes de los primeros signos de afectación del SNC. En la segunda fase (enfermedad mayor) el virus se multiplica en el cerebro, las células son lesionadas y destruidas y la encefalitis se vuelve clínicamente manifiesta. Se necesitan altas concentraciones de virus en el tejido cerebral antes que se dé tal manifestación.

Manifestaciones clínicas

Los periodos de incubación de las encefalitis fluctúan entre cuatro y 21 días. Las infecciones no manifiestas son frecuentes. Algunas personas infectadas presentan una enfermedad seudogripal leve, en tanto que otras manifiestan encefalitis. Hay una instauración súbita con cefalea intensa, escalofríos y fiebre, náusea y vómito, dolores generalizados y malestar general. En las primeras 24 a 48 h, sobreviene una somnolencia intensa y el paciente puede presentar estupor. En los casos graves se presenta confusión mental, temblores, convulsiones y coma. La fiebre persiste por cuatro a 10 días. La tasa de mortalidad en la encefalitis varía (cuadro 38-2). En la encefalitis B japonesa, la tasa de mortalidad en los grupos de edad más avanzada puede alcanzar 80%. Las secuelas pueden ser leves a graves y comprenden deterioro mental, cambios de la personalidad, parálisis, afasia y signos cerebelosos.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento del virus y detección directa

Los intentos de aislamiento del virus exigen precauciones de bioseguridad apropiadas para evitar las infecciones en el laboratorio. El virus se encuentra en la sangre sólo en las primeras fases de la infección, por lo general antes que comiencen los síntomas. También se pueden encontrar virus en el líquido cefalorraquídeo (LCR) o en muestras de tejido, lo que depende del microorganismo. Los alfavirus y los flavivirus por lo general pueden desarrollarse en linajes celulares comunes como Vero, BHK, HeLa y MRC-5. Los linajes de células de mosquito son útiles. La inoculación intracerebral de los ratones recién nacidos o cobayos también se utiliza para el aislamiento del virus.

Se dispone de análisis de detección de antígeno y reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para la detección directa de RNA o proteínas virales en especímenes clínicos para algunos arbovirus. El empleo de anticuerpos monoclonales específicos de virus en análisis inmunofluorescentes ha facilitado la identificación rápida del virus en muestras clínicas.

B. Serología

Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación son detectables pocos días después del inicio de la enfermedad. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación perduran por años. La prueba HI es la prueba diagnóstica más sencilla, pero identifica el grupo más que el virus causante específico. Los análisis serológicos más sensibles detectan IgG específicos del virus en suero (IgM) o en el LCR mediante ELISA.

Es necesario establecer un incremento de cuatro tantos o más de los anticuerpos específicos durante la infección para confirmar un diagnóstico. La primera muestra de suero debe obtenerse lo más pronto posible después del inicio y la segunda dos a tres semanas más tarde. Al establecer el diagnóstico se debe tomar en cuenta la reactividad cruzada dentro del grupo de alfavirus o flavivirus. Después de una sola infección por un miembro del grupo, también pueden producirse anticuerpos en otros miembros. El diagnóstico serológico se vuelve difícil cuando ocurre una epidemia causada por un miembro del grupo serológico en una zona donde otro miembro del grupo es endémico.

Inmunidad

Se piensa que la inmunidad es permanente después de una infección simple. Se considera que las respuestas de anticuerpo humoral lo mismo que las inmunitarias celulares son importantes en la protección y el restablecimiento tras la infección. En zonas endémicas, la población puede adquirir inmunidad como resultado de infecciones asintomáticas; la proporción de personas con anticuerpos contra el virus transmitido por el artrópodo local se incrementa con la edad.

Debido a los antígenos comunes, la respuesta a la inmunización o a la infección con uno de los virus de un grupo puede modificarse por la exposición previa a otro miembro del mismo grupo. Este mecanismo es importante para conferir protección en una población contra una epidemia de un microorganismo relacionado (p. ej., no encefalitis japonesa B en zonas endémicas para la fiebre del Nilo Occidental).

Epidemiología

En zonas muy endémicas, casi toda la población humana puede infectarse con un arbovirus y la mayor parte de las infecciones son asintomáticas. Existen cocientes de infección a casos elevados en grupos de edad específica y para muchas infecciones por arbovirus (cuadro 38-2). Casi todos los casos ocurren en los meses de verano en el hemisferio norte cuando los artrópodos son más activos.

A. Encefalitis equina oriental y occidental

La encefalitis equina oriental es la más grave de las encefalitis por arbovirus y es la que tiene una tasa de mortalidad más alta. Las infecciones son infrecuentes y esporádicas en Estados Unidos, con un promedio de cinco casos confirmados por año. En el caso de la encefalitis equina occidental, la transmisión ocurre a un bajo nivel en el occidente rural, donde las aves y los mosquitos *Culex tarsalis* participan en el ciclo de mantenimiento del virus. Las infecciones de seres humanos promedian 15 casos confirmados por año. Sin embargo, ha habido casos previos (los más recientes en 1987) en que los seres humanos y los equinos se infectaban a niveles epidémicos y epizoóticos. Los brotes epidémicos han afectado amplias zonas del occidente de Estados Unidos y Canadá.

B. Encefalitis de St. Louis

El virus de la encefalitis de St. Louis es la causa más importante de encefalitis epidémica del ser humano en Norteamérica (figura 38-2) y ha causado casi 10 000 casos y 1 000 muertes desde que fue reconocido inicialmente en 1933. Las tasas de seroprevalencia en general son bajas y la incidencia de encefalitis de St. Louis varía cada año en Estados Unidos. En la actualidad hay un promedio de 100 casos confirmados cada año. Menos de 1% de las infecciones virales produce manifestaciones clínicas. Es necesaria la presencia de mosquitos infectados para que puedan presentarse las infecciones humanas, aunque los factores socioeconómicos y culturales (aire acondicionado, mallas, control de los mosquitos) modifican el grado de exposición de la población a estos vectores portadores de virus.

C. Fiebre del Nilo Occidental

La fiebre del Nilo Occidental es causada por un miembro del complejo antigénico de flavivirus de la encefalitis japonesa B. Se presenta en Europa, Medio Oriente, África, la ex Unión Soviética, el suroeste de Asia y, en tiempos más recientes, Estados Unidos. Apareció inesperadamente en la zona de la ciudad de Nueva York en 1999 y produjo siete fallecimientos y una gran mortalidad en una serie de aves domésticas y exóticas. El análisis secuencial de las cepas de virus demostró que se originaba en el Medio Oriente; probablemente cruzó el Atlántico en un ave, mosquito o viajero humano infectados.

Al cabo de tres años el virus del Nilo Occidental ha consumado su desplazamiento transcontinental a través de Estados Unidos y se estableció en una presencia permanente en los climas templados de Norteamérica En los 48 estados contiguos de Estados Unidos se detectó el virus del Nilo Occidental y constituye la causa principal de la encefalitis arboviral en ese país. Otros arbovirus que causan casos esporádicos de enfermedad neuroinvasora en el país mencionado incluyen el virus La Crosse y los virus de la encefalitis oriental y la de St. Louis. Se calcula que casi 80% de las infecciones del Nilo Occidental son asintomáticas y cerca de 20% producen la fiebre del Nilo Occidental, menos de 1% es causa de enfermedad neuroinvasiva (meningitis, encefalitis o parálisis flácida aguda). La encefalitis letal es más frecuente en personas de edad avanzada. Se ha identificado como un factor de riesgo para las infecciones del Nilo Occidental sintomáticas una deficiencia genética que produce una variante no funcional del receptor de quimiocina CCR5. En 2002, una epidemia por virus del Nilo Occidental en Estados Unidos incluyó los primeros casos documentados de transmisión de persona a persona por trasplante de órgano, transfusión sanguínea, *in utero* y quizá por amamantamiento. En Estados Unidos en 2003 se implantó la detección sistemática del virus del Nilo Occidental en donaciones de sangre.

El virus del Nilo Occidental produce viremia y una enfermedad febril leve y aguda con linfadenopatía y exantema. La afectación meníngea transitoria puede presentarse durante la etapa aguda. Sólo existe un tipo antigénico de virus y se supone que la inmunidad es permanente.

En 2003 se comenzó a contar con una vacuna del Nilo Occidental. No existe vacuna para el ser humano. La prevención de la enfermedad por el virus del Nilo Occidental depende del control de los mosquitos y de la protección contra sus picaduras.

D. Encefalitis japonesa B

La encefalitis japonesa B es la principal causa de encefalitis viral en Asia (figura 38-2). Cada año se presentan alrededor de 50 000 casos en China, Japón, Corea y el subcontinente conformado por India, con 10 000 decesos, principalmente niños y ancianos. La mortalidad puede superar 30%. Un elevado porcentaje de sobrevivientes (hasta 50%) quedan con secuelas neurológicas y psiquiátricas. Se ha comunicado que las infecciones durante el primero y el segundo trimestres del embarazo desencadenaron muerte fetal.

Los estudios de seroprevalencia señalan la exposición casi general al virus de la encefalitis japonesa B hacia la edad adulta. El cociente estimado entre infecciones asintomáticas y sintomáticas es de 300:1. No se cuenta con tratamiento alguno. En Asia se distribuyen vacunas japonesas eficaces contra la encefalitis. En el año de 2009 en Estados Unidos se aprobó el uso de una vacuna derivada de cultivo de células Vero inactivadas.

E. Virus Chikungunya

Se trata de un alfavirus transmitido por mosquitos, miembro del complejo antigénico de virus del bosque de Semliki. Reapareció en Kenia en 2004 después de varios decenios de ausencia y causó brotes masivos de infección en India, sureste asiático y la región del Océano Índico. El virus ocasionó un brote en Italia en 2007. Se informaron casos esporádicos de viajeros que regresaron a Estados Unidos. En 2013 el virus de chikungunya logró establecerse en la región del mar Caribe y se diseminó con rapidez. Desde el punto de vista clínico, la infección se parece a la fiebre del dengue, pero es más probable que cause fiebre alta, exantema y dolor articular grave; las infecciones asintomáticas son raras. No existe vacuna.

F. Encefalitis por garrapatas

El flavivirus de esta especie es causa importante de encefalitis en Europa, Rusia y el norte de China. Cada año se han notificado entre 10 000 y 12 000 casos de la encefalitis mencionada y la mayor parte de ellos aparecieron en los estados bálticos, Eslovenia y Rusia. La enfermedad se manifiesta más bien en los comienzos del verano, particularmente en seres humanos expuestos a las garrapatas *Ixodes persulcatus* e *Ixodes ricinus* en áreas boscosas con actividades al aire libre. Se conocen tres subtipos de virus que causan enfermedad en seres humanos:

europeo, del lejano oriente y siberiano, y la segunda variedad al parecer es la más virulenta. El virus infecta muchas especies de animales, pero no se ha señalado transmisión directa de una persona a otra.

No se cuenta con tratamiento específico de la encefalitis transmitida por garrapatas. El riesgo de exposición disminuye con el empleo de medidas de protección personales como el uso de ropa apropiada. Se cuenta con vacunas eficaces producidas en Austria, Alemania y Rusia; éstas se elaboran con la cepa europea y la del Lejano Oriente.

Tratamiento y control

No hay ningún tratamiento específico para infecciones arbovirales. El control biológico del vertebrado hospedador natural por lo general no es práctico, sobre todo cuando los hospedadores son aves silvestres. El método más eficaz es el control de artrópodos, de manera que la atomización de insecticidas destruirá mosquitos. Las medidas personales comprenden evitar los mosquitos mediante repelentes y con uso de prendas protectoras. Las casas deben tener mallas de ventanas adecuadas.

Se han desarrollado vacunas eficaces de virus muertos para proteger a los caballos contra las encefalitis equina oriental, occidental y venezolana. Se dispone de una vacuna de virus vivos atenuados para la encefalitis equina venezolana que permite reducir las epidemias en los caballos. Estas vacunas no son para uso humano. Se cuenta con vacunas humanas de microorganismos inactivados experimentales contra los virus de la encefalitis oriental, occidental y venezolana equina en fase de investigación para proteger a los técnicos de laboratorio. Las vacunas en la encefalitis japonesa B de virus muertos y de virus vivos atenuados están disponibles para uso humano en varios países asiáticos. La vacuna está disponible en Estados Unidos para personas que viajan a países endémicos.

Ciclos de transmisión en hospedador-vector del arbovirus

Las infecciones en seres humanos por los virus de la encefalitis transmitida por mosquitos se presentan cuando un mosquito u otro artrópodo pica inicialmente a un animal infectado y después a un ser humano.

Las encefalitis equina oriental, occidental y venezolana son transmitidas por mosquitos culicinos a caballos o seres humanos desde un ciclo de mosquito-ave-mosquito (figura 38-5). Los equinos, al igual que los seres humanos, son hospedadores no esenciales para el mantenimiento del virus. Tanto la encefalitis equina oriental como la venezolana en los caballos son graves y hasta 90% de los animales afectados mueren. La encefalitis equina occidental epizoótica a menudo es menos mortal para los caballos. Además, la encefalitis equina oriental produce epizootias graves en determinadas aves de caza nacionales. También ocurre un ciclo de mosquito-ave-mosquito en la encefalitis de St. Louis, la fiebre por el virus del Nilo Occidental y la encefalitis japonesa B. Los cerdos son hospedadores importantes de la encefalitis japonesa B. Los mosquitos se mantienen infectados de por vida (varias semanas a meses). Sólo la hembra se alimenta de sangre y puede alimentar y transmitir el virus más de una vez. Las células del intestino medio del mosquito son el principal lugar para la multiplicación del virus. Esto se acompaña de una viremia y de la invasión de órganos, principalmente glándulas salivales y tejido nervioso, donde ocurre la replicación viral secundaria. El artrópodo se mantiene sano.

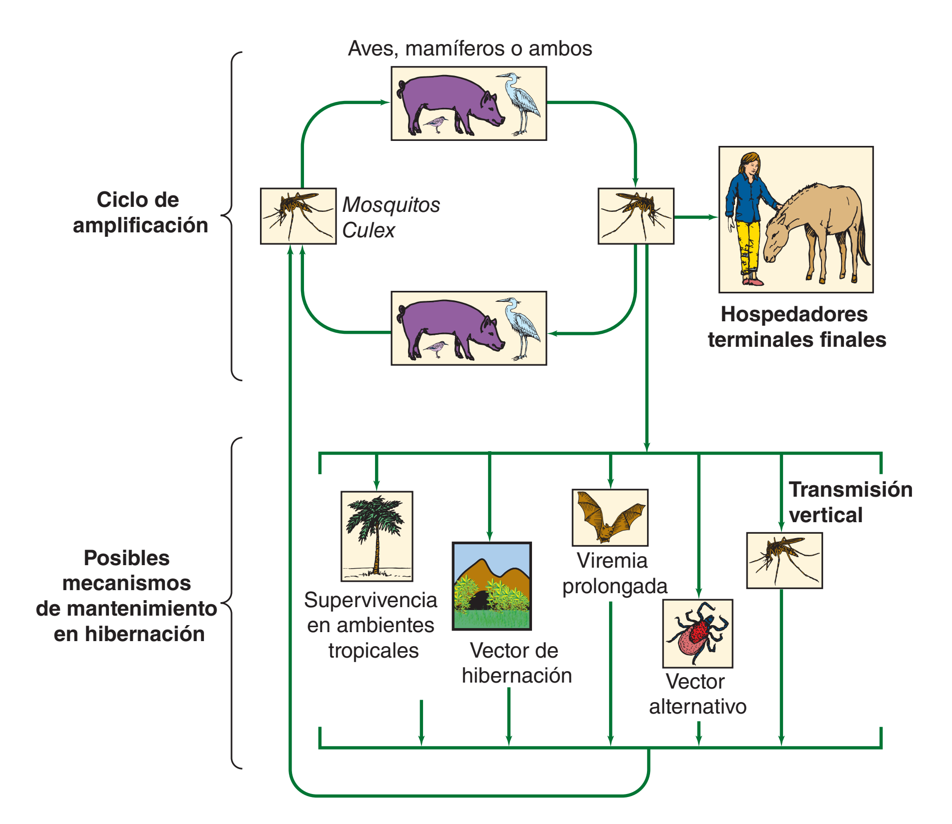


FIGURA 38-5 Ciclo de transmisión generalizada de los flavivirus transmitidos por el mosquito que produce encefalitis. Se muestra la amplificación en el tiempo de verano y los posibles mecanismos de hibernación. Los seres humanos son hospedadores terminales muertos y no contribuyen a la perpetuación de la transmisión del virus. Las aves silvestres son los hospedadores virémicos más frecuentes, pero los cerdos tienen una participación importante en el caso del virus de la encefalitis japonesa. El patrón mostrado se aplica a muchos flavivirus (pero no a todos). (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX. Flaviviruses. En: *Fields Virology,* 3a. ed. Fields BN *et al.* [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

La infección de murciélagos insectívoros por arbovirus produce una viremia que dura seis a 12 días sin ninguna enfermedad o cambios patológicos en el murciélago. Si bien la concentración viral es alta, el murciélago infectado puede infectar a los mosquitos que luego pueden transmitir la infección a aves silvestres y de corral, así como a otros murciélagos.

También hay encefalitis por flavivirus transmitidas por las garrapatas. Éstas pueden infectarse en cualquier etapa de su metamorfosis y el virus se puede transmitir a través de los ovarios (figura 38-6). El virus es secretado en la leche de cabras infectadas por periodos prolongados y la infección puede transmitirse a quienes beben leche no pasteurizada. El virus de la encefalitis de Powassan fue el primer miembro del complejo ruso de la primavera y el verano que se aisló en Norteamérica. El caso mortal original se informó en Canadá en 1959. La infección humana es infrecuente.

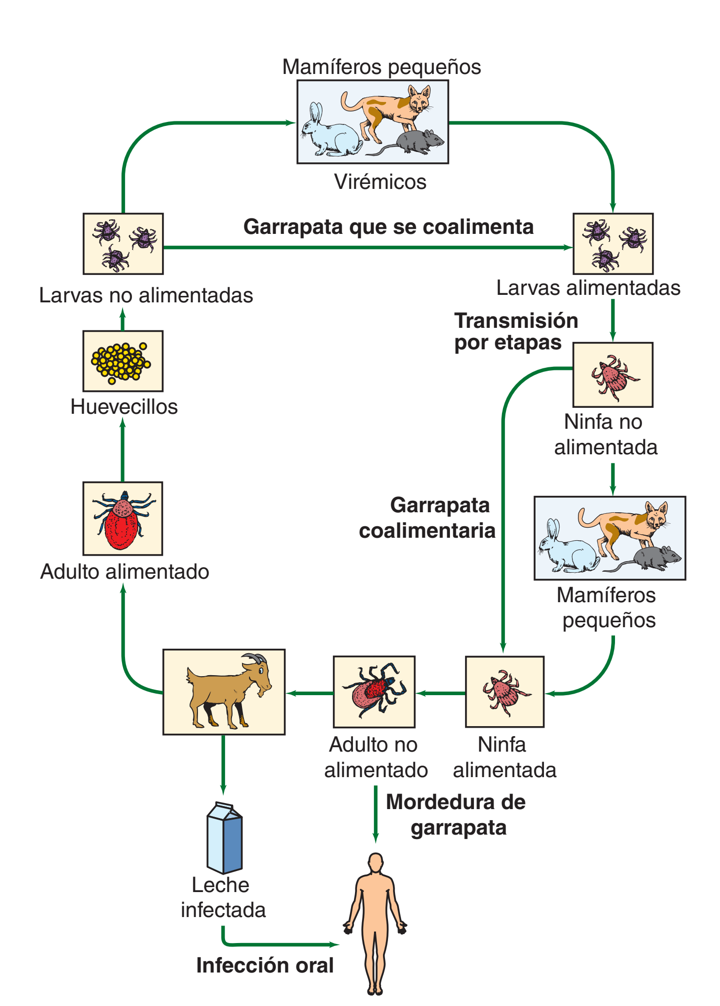


FIGURA 38-6 Ciclo de transmisión generalizada de los flavivirus transmitidos por la garrapata, que muestran los hospedadores para las garrapatas en las etapas de larva, ninfa y adulto. El virus es transmitido a etapas sucesivas de la garrapata durante la transmisión de un estadio a otro, así como por vía transovárica a la progenie de las garrapatas adultas. Tanto las garrapatas hembras como machos intervienen en la transmisión. El virus de la encefalitis transmitida por la garrapata puede transmitirse a las garrapatas no infectadas que se alimentan simultáneamente de un hospedador vertebrado sin necesidad de una infección virémica activa del hospedador. (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

Hibernación de los arbovirus

Las características epidemiológicas de las encefalitis transmitidas por artrópodos deben tomar en cuenta el mantenimiento y la diseminación de los virus en la naturaleza en la ausencia de seres humanos. Se han aislado virus de mosquitos y garrapatas, los cuales sirven de reservorios de la infección. En las garrapatas, los virus pueden pasar de una generación a otra por vía transovárica y en tales casos la garrapata funciona como un verdadero portador del virus y también de su vector (figura 38-6). En los climas tropicales, donde se presentan poblaciones de mosquitos durante todo el año, el ciclo de los arbovirus es continuo entre mosquito y reservorios animales.

En climas templados, el virus puede reintroducirse cada año desde el exterior (p. ej., por aves que migran desde zonas tropicales) o pueden sobrevivir el invierno en la zona local. Los posibles pero no demostrados mecanismos de hibernación son los siguientes (figuras 38-5 y 38-6): 1) los mosquitos en hibernación en el momento de su emergencia pueden reinfectar aves; 2) el virus puede mantenerse latente en el invierno en las aves, los mamíferos o los artrópodos, y 3) los vertebrados de sangre fría (serpientes, tortugas, cocodrilos, lagartos, sapos) pueden hacer las veces de reservorios en invierno.

FIEBRE AMARILLA

El virus de la fiebre amarilla es el miembro prototipo de la familia Flaviviridae. Produce fiebre amarilla, una enfermedad aguda, febril, transmitida por los mosquitos en regiones tropicales y subtropicales de África y Sudamérica (figura 38-2). Los casos graves se caracterizan por disfunción hepática y renal, además de hemorragia, con una elevada mortalidad.

Con base en el análisis secuencial, se han identificado por lo menos siete genotipos de virus de la fiebre amarilla, cinco en África y dos en Sudamérica. Hay un solo serotipo.

El virus de la fiebre amarilla se multiplica en animales de muy diferentes tipos y en los mosquitos; se cultiva en huevos embrionados, cultivos de células de embrión de pollo y linajes celulares, incluidos los de origen de simio, humano, cobayo y mosquito.

Patogenia y anatomía patológica

El virus es introducido por un mosquito a través de la piel, donde se multiplica. Se disemina a ganglios linfáticos locales, hígado, bazo, riñón, médula ósea y miocardio, donde puede persistir por días. Está presente en la sangre en las primeras etapas de la infección.

Las lesiones de la fiebre amarilla se deben a la ubicación y la propagación del virus en un órgano específico. Las infecciones pueden producir lesiones necróticas en el hígado y el riñón. También se presentan cambios degenerativos en bazo, ganglios linfáticos y corazón. La infección grave se caracteriza por hemorragia y choque. La lesión miocárdica por el virus puede contribuir al choque.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de tres a seis días. En el inicio brusco, el paciente tiene fiebre, escalofríos, cefalea, mareos,

mialgias y dorsalgia (seguidos de náusea, vómito y bradicardia). Durante este periodo inicial, que dura varios días, el paciente se encuentra virémico y constituye una fuente de infección para los mosquitos. La mayor parte de los pacientes se recuperan en esta etapa, pero en casi 15% de los casos la enfermedad evoluciona a una forma más grave caracterizada por fiebre, ictericia, insuficiencia renal y manifestaciones hemorrágicas. El vómito puede ser negro con sangre alterada. Cuando la enfermedad evoluciona a la etapa grave (insuficiencia hepatorrenal), la tasa de mortalidad es elevada (20% o más), sobre todo en los pequeños y en los ancianos. Ocurre el deceso en el día siete a 10 de la enfermedad. La encefalitis es infrecuente.

Por otra parte, la infección puede ser tan leve que pasa inadvertida. Sea cual sea la gravedad, no hay secuelas; los pacientes mueren o se restablecen del todo.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección o aislamiento del virus

Se puede identificar el antígeno o el ácido nucleico del virus en especímenes de tejido utilizando inmunohistoquímica, la captación del antígeno mediante ELISA o PCR. El virus puede aislarse de la sangre los primeros cuatro días después del inicio o de tejido en el estudio forense mediante la inoculación intracerebral de ratones o con el empleo de linajes de células.

B. Serología

Los anticuerpos IgM se producen durante la primera semana de la enfermedad. La detección de anticuerpo IgM mediante la captura de ELISA en una sola muestra proporciona un diagnóstico presuntivo y se confirma por un incremento de cuatro o más en las concentraciones de anticuerpo neutralizante entre muestras de suero obtenidos en la fase aguda y la fase de convalecencia. Los métodos serológicos más antiguos, como HI, en gran parte se han reemplazado con ELISA. Los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación específicos se presentan primero, seguidos de anticuerpos contra otros flavivirus.

Inmunidad

Los anticuerpos neutralizantes se producen alrededor de una semana de avanzada la enfermedad y son causa de la eliminación del virus. Estos anticuerpos persisten de por vida y proporcionan una protección completa contra la enfermedad. La demostración de anticuerpos neutralizantes es la única prueba útil de la inmunidad contra la fiebre amarilla.

Epidemiología

Se reconocen dos ciclos epidemiológicos importantes de transmisión de la fiebre amarilla: 1) fiebre amarilla urbana y 2) fiebre amarilla de la selva (figura 38-7). La fiebre amarilla urbana conlleva la transmisión interpersonal por mosquitos *Aedes* domésticos. En el hemisferio occidental y en África Occidental, esta especie es principalmente *Aedes aegypti,* que se reproduce en las acumulaciones de agua que acompañan a los asentamientos humanos. En zonas donde se ha eliminado *A. aegypti,* la fiebre amarilla urbana ha desaparecido.

La fiebre amarilla de la selva es principalmente una enfermedad de los simios. En Sudamérica y África, es transmitida de simios a simios por mosquitos arbóreos (es decir, *Haemagogus, Aedes*) que habitan el bosque húmedo. La infección en los animales puede ser grave o no manifiesta. El virus se multiplica en mosquitos, los cuales permanecen infecciosos de por vida. Las personas que realizan actividades de tala de árboles de la selva entran en contacto con estos mosquitos y se infectan.

La fiebre amarilla no ha invadido Asia, aun cuando el vector *A. aegypti* tiene una amplia distribución ahí.

La fiebre amarilla sigue infectando y matando a miles de personas en todo el mundo ya que no han logrado inmunizarse. Se calcula que cada año la fiebre amarilla afecta a 200 000 personas, de las cuales fallecen unas 30 000 (15%). La mayor parte de los brotes epidémicos (cerca de 90%) ocurren en África. Las epidemias suelen presentarse en una zona de emergencia típica para la fiebre amarilla: sabanas húmedas y semihúmedas adjuntas a la selva lluviosa donde se mantiene el ciclo selvático en una población de simios extensa. Durante las epidemias en África, el cociente de infección:casos fluctúa de 20:1 a 2:1. Todos los grupos de edad son susceptibles.

La fiebre amarilla en América presenta proporciones epidemiológicas que son características de su ciclo selvático; casi todos los casos ocurren en varones de 15 a 45 años de edad y que realizan actividades agrícolas o en los bosques.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ninguna farmacoterapia antiviral.

Los programas enérgicos de abatimiento del mosquito prácticamente han eliminado la fiebre amarilla urbana en gran parte de Sudamérica; sin embargo, el control de vectores es impráctico en muchos lugares de África. El último brote de fiebre amarilla notificado en Estados Unidos tuvo lugar en 1905. No obstante, con la velocidad de los viajes aéreos modernos, existe la amenaza de un brote de fiebre amarilla siempre que esté presente *A. aegypti.* Casi todos los países insisten en el control apropiado de los mosquitos en los aviones así como en la vacunación de todas las personas por lo menos 10 días antes de la llegada a una zona endémica o de la salida de la misma.

La cepa 17D del virus de la fiebre amarilla es una vacuna excelente de virus vivos atenuados. Durante el paso serial de una cepa pantrópica del virus de la fiebre amarilla a través de cultivos de tejido, se aisló la cepa 17D relativamente avirulenta. Esta cepa perdió su capacidad para provocar enfermedad viscerotrópica o neurotrópica y se ha utilizado como una vacuna durante más de 70 años.

Se ha determinado la secuencia de la cepa Asibi virulenta del virus de la fiebre amarilla y se ha comparado con la de la cepa de la vacuna 17D, derivada de la misma. Estas dos cepas están separadas por más de 240 pasajes. Los dos genomas de RNA (10 862 nucleótidos de longitud) difieren en 68 posiciones de nucleótido, lo que da por resultado un total de diferencias de 32 aminoácidos.

La vacuna se prepara en huevos y se dispensa en un polvo desecado. Es un virus vivo y se debe mantener frío. Una sola dosis produce una buena respuesta de anticuerpo en más de 95% de las personas vacunadas que persiste por lo menos durante 30 años. Después de la vacunación, el virus se

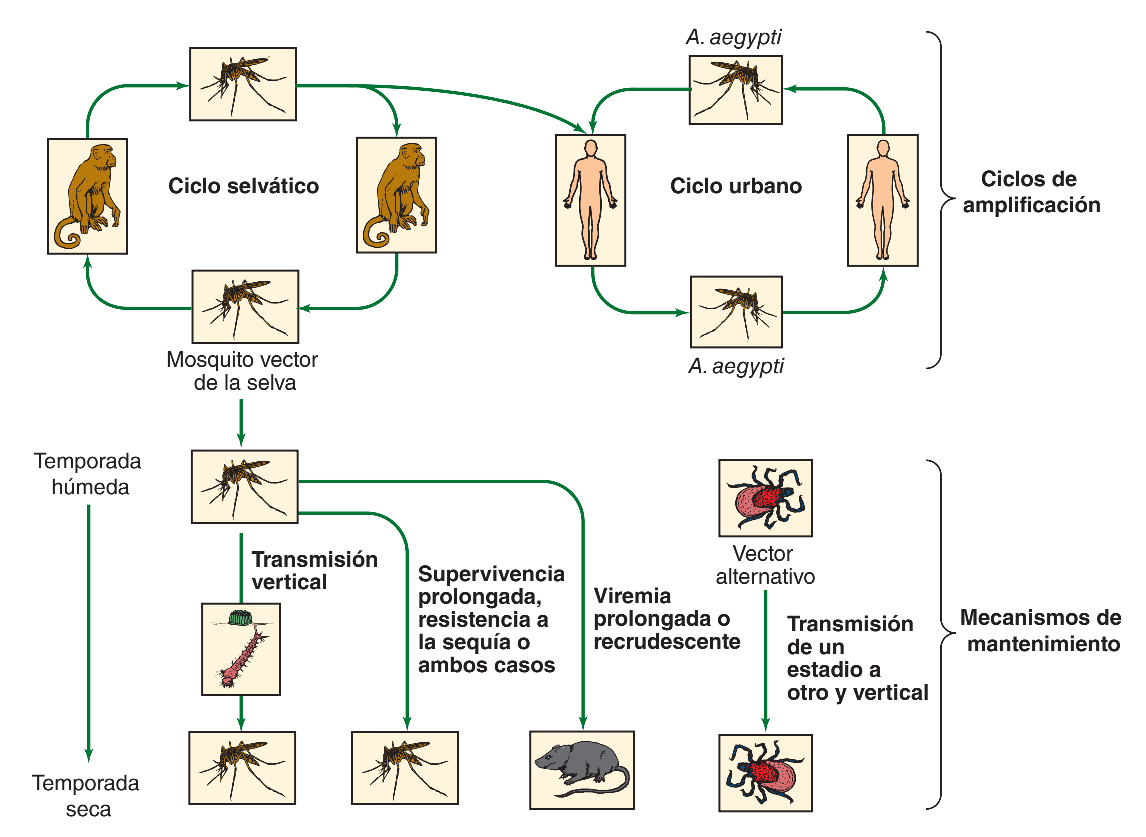


FIGURA 38-7 Ciclos de transmisión de los virus de la fiebre amarilla y del dengue. Estos virus tienen ciclos de mantenimiento enzoóticos en los que intervienen vectores *Aedes* y primates no humanos. Los virus del dengue son transmitidos principalmente entre seres humanos y *Aedes aegypti* que se reproducen en recipientes de agua doméstica. En el caso de la fiebre amarilla, la transmisión selvática se dispersa por toda la distribución geográfica del virus. En los países tropicales de América, los casos de fiebre amarilla en seres humanos se derivan del contacto con los vectores mosquitos de la selva y no se han observado casos de fiebre amarilla urbana (transmitidos por *Aedes aegypti)* durante más de 50 años. En África, los vectores selváticos intervienen en la transmisión del virus entre monos y entre seres humanos, y hay una participación frecuente de *Aedes aegypti* en las regiones urbanas y en las regiones secas de la sabana. (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

multiplica y puede aislarse de la sangre antes que se produzcan anticuerpos.

La vacunación está contraindicada en los lactantes menores de nueve meses de edad, durante el embarazo, y en personas con alergias al huevo o alteraciones de los sistemas inmunitarios (p. ej., infección por el virus de la inmunodeficiencia humana con recuentos bajos de células CD4, cáncer, trasplante de órgano).

La vacuna 17D es segura. Se han administrado más de 400 millones de dosis de vacuna de la fiebre amarilla y las reacciones adversas graves son en extremo infrecuentes. Han ocurrido casi dos docenas de casos en todo el mundo de enfermedad neurotrópica relacionada con la vacuna (encefalitis posvacunal), la mayor parte de los cuales ocurrieron en lactantes. En el año 2000 se describió un síndrome grave denominado enfermedad viscerotrópica relacionada con la vacuna de la fiebre amarilla. En todo el mundo se han notificado menos de 20 casos de insuficiencia orgánica múltiple en receptores de la vacuna.

La vacunación es la medida preventiva más eficaz contra la fiebre amarilla, una infección potencialmente grave con una tasa de mortalidad elevada para la cual no se dispone de ningún tratamiento específico.

DENGUE

El dengue (**fiebre quebrantahuesos**) se trata de una infección transmitida por mosquitos causada por un flavivirus que se caracteriza por fiebre, cefalea grave, mialgias y artralgias, náusea y vómito, dolor ocular y exantema. Una forma grave de la enfermedad, la fiebre por el dengue hemorrágico o el síndrome de choque por dengue, afecta principalmente a los niños. El dengue es endémico en más de 100 países.

Manifestaciones clínicas

La enfermedad clínica comienza cuatro a siete días (intervalo de tres a 14 días) después de una picadura de mosquito infeccioso. La instauración de la fiebre puede ser súbita o puede haber síntomas prodrómicos de malestar, escalofríos y cefalea. Los dolores se producen pronto, sobre todo en la espalda, las articulaciones, los músculos y los globos oculares. La fiebre persiste durante dos a siete días, lo que corresponde a la máxima densidad viral. La temperatura puede ceder casi en el tercer día y aumentar de nuevo alrededor de los cinco a ocho días después del inicio (“ensillada”). Las mialgias y la artralgia profunda son características. Puede presentarse un exantema en el tercer o el cuarto día y persistir durante uno a cinco

días. Los ganglios linfáticos a menudo están aumentados de tamaño. La fiebre por el dengue característica es una enfermedad que cede espontáneamente. La convalecencia puede tardar semanas, aunque las complicaciones y el deceso son infrecuentes. Sobre todo en los niños pequeños, el dengue puede ser una enfermedad febril leve que persista por un leve periodo.

Puede presentarse un síndrome grave (**fiebre hemorrágica por dengue** y **síndrome de choque por dengue**) en personas (por lo general niños) con anticuerpo adquirido pasivamente (como anticuerpo materno) o anticuerpo de dengue heterólogo no neutralizante preexistente debido a la infección previa por un serotipo diferente de virus. Aunque los síntomas iniciales se parecen al dengue normal, se agrava el estado del paciente. La característica anatomopatológica clave de la fiebre hemorrágica por el dengue es un aumento de la permeabilidad vascular con filtración de plasma hacia los espacios intersticiales asociada a un incremento de las concentraciones de citocina vasoactivas. Esto puede desencadenar choque letal en algunos pacientes.

Diagnóstico de laboratorio

Se dispone de métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse-transcription polymerase chain reaction*) para la identificación rápida y la serotipificación del virus del dengue en suero de fase aguda, aproximadamente durante el periodo de fiebre. Es difícil aislar el virus. El método favorecido en la actualidad es una inoculación de un linaje celular de mosquito con suero del paciente, aunado a análisis de ácido nucleico para identificar un virus aislado.

El diagnóstico serológico es complicado por la reactividad cruzada de anticuerpos IgG a antígenos de flavivirus heterólogos. Se dispone de diversos métodos; los utilizados con más frecuencia son ELISA de IgM o IgG para la captura específica de proteína viral E/M y la prueba de HI. Se presentan anticuerpos IgM a pocos días de la enfermedad. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación se presentan en el lapso de una semana después de comenzar la fiebre por el dengue. El análisis de sueros de fase aguda y convaleciente pareados para demostrar un incremento notable del valor cuantitativo de anticuerpo es la prueba más fiable de una infección por el dengue activa.

Inmunidad

Existen cuatro serotipos del virus que pueden distinguirse mediante los análisis moleculares y las pruebas de neutralización. La infección confiere protección de por vida contra ese serotipo, pero la protección cruzada entre los serotipos tiene una corta duración. La reinfección con un virus de un serotipo diferente después del ataque primario tiene más posibilidades de producir enfermedad grave (fiebre hemorrágica del dengue).

La patogenia del síndrome grave comprende anticuerpos preexistentes contra el dengue. Se cree que los complejos de virus-anticuerpo se forman pocos días a partir de la segunda infección por dengue y que los anticuerpos no neutralizantes incrementan la infección de cifras más elevadas de células mononucleares seguidas por la liberación de citocinas, mediadores citoactivos y procoagulantes, que llevan a la coagulación intravascular diseminada vista en el síndrome de fiebre hemorrágica. También pueden estar involucradas las respuestas inmunitarias celulares de reacción cruzada al virus del dengue.

Epidemiología

Los virus del dengue tienen una distribución mundial en las regiones tropicales (figura 38-2). Casi todas las regiones subtropicales y tropicales en todo el mundo donde existen los vectores *Aedes* son zonas endémicas. En los últimos 20 años, el dengue epidémico ha surgido como un problema en América. En 1995, en Centroamérica y Sudamérica ocurrieron más de 200 000 casos de dengue y más de 5 500 casos de fiebre hemorrágica del dengue. Los patrones cambiantes de la enfermedad probablemente tienen relación con el crecimiento rápido de la población urbana, el hacinamiento y las medidas laxas para controlar el mosquito.

El dengue en 2008 fue la enfermedad viral transmitida por el mosquito que afecta al ser humano de mayor importancia. Se calcula que en todo el mundo cada año se presentan unos 50 millones o más de casos de dengue y 400 000 casos de fiebre hemorrágica por el dengue. Esta última es la causa principal de muerte infantil en varios países asiáticos.

El riesgo del síndrome de fiebre hemorrágica es de casi 0.2% durante la primera infección por el dengue pero de por lo menos 10 tantos más elevada durante la infección con un segundo serotipo del virus del dengue. La tasa de mortalidad por la fiebre hemorrágica del dengue puede alcanzar 15% pero se puede reducir a menos de 1% con el tratamiento apropiado.

El cociente de infecciones asintomáticas a manifiestas es variable pero puede ser de 15:1 para las infecciones primarias; es más bajo en las infecciones secundarias.

En las poblaciones urbanas, las epidemias del dengue son explosivas y afectan a porciones considerables de la población. A menudo comienzan durante las estaciones lluviosas cuando abunda el mosquito vector *A. aegypti* (figura 38-7). El mosquito se reproduce en climas tropicales o semitropicales en receptáculos de agua estancada o en plantas cercanas a los hábitats humanos.

A. aegypti es el principal mosquito vector del dengue en el hemisferio occidental. La hembra adquiere el virus al alimentarse de un humano virémico. Tras un periodo de ocho a 14 días, los mosquitos son infecciosos y probablemente se mantienen así de por vida (uno a tres meses). En el trópico, la reproducción del mosquito durante todo el año mantiene la enfermedad.

La Segunda Guerra Mundial fue la causa de la diseminación del dengue desde el sureste de Asia por toda la región del Pacífico. En América por muchos años sólo existió el dengue de tipo 2. Luego, en 1977 se detectó un virus del dengue de tipo 1. Esta fue la primera vez que se había aislado el virus de tipo 1 en el hemisferio occidental. En 1981, el dengue de tipo 4 se reconoció inicialmente en el hemisferio occidental y después en 1994 el dengue de tipo 3. Los virus en la actualidad se propagan por toda Centroamérica y Sudamérica y la fiebre hemorrágica del dengue es endémica en muchos países.

El dengue endémico en el Caribe y en México es una amenaza constante para Estados Unidos, donde prevalecen los mosquitos *A. aegypti* en los meses de verano. Junto con el aumento de la actividad epidémica del dengue en los trópicos,

ha habido un incremento en el número de casos importados hacia Estados Unidos. En el año 2010, el dengue fue la causa principal de cuadros febriles en viajeros que habían estado en países del Caribe, Latinoamérica y Asia. En el sur de Texas en 2005 se produjo el primer caso local de dengue hemorrágico. De 2009 a 2010 se produjeron en Key West, Florida, 28 casos de dengue adquirido en la localidad.

En 1985 se descubrió en Texas *A. albopictus,* un mosquito de origen asiático; hacia 1989 se había difundido por todo el sureste de Estados Unidos, donde prevalece *A. aegypti,* el principal vector del virus del dengue. En contraste con *A. aegypti,* que no puede hibernar en los estados del norte, *A. albopictus* puede emigrar más hacia el norte durante el invierno, lo que aumenta el riesgo del dengue epidémico en Estados Unidos.

Tratamiento y control

No se dispone de ninguna farmacoterapia antiviral. La fiebre hemorrágica del dengue se trata mediante la reposición de líquidos. No existe ninguna vacuna, pero está en desarrollo su posibilidad, con la gran dificultad de crear una que confiera protección contra los cuatro serotipos del virus. Están en fase de estudio y obtención de anticuerpos terapéuticos para neutralizar múltiples genotipos del dengue.

El control depende de las medidas contra el mosquito, por ejemplo, eliminación de los lugares de reproducción y el empleo de insecticidas. Las ventanas y las puertas con mallas pueden reducir la exposición a los vectores.

ENCEFALITIS POR BUNYAVIRUS

La familia Bunyaviridae contiene más de 300 virus, la mayor parte transmitidos por artrópodos. Las partículas esféricas que miden 80 a 120 nm contienen genoma monocatenario, de polaridad negativa o bipolar, de RNA segmentado triple de un tamaño total de 11 a 19 kb. La envoltura tiene dos glucoproteínas. Varios virus producen encefalitis admitidas por el mosquito en seres humanos y en animales; otros causan fiebres hemorrágicas. La transmisión viral ocurre en algunos mosquitos. Algunos son transmitidos por las moscas de la arena. El HSP es causado por un virus transmitido por roedores. Los bunyavirus son sensibles a la inactivación por calor, detergentes, formaldehído y un pH bajo; algunos producen hemaglutinación (figura 38-1).

El complejo del virus de la encefalitis de California comprende 14 virus antigénicamente relacionados del género *Orthobunyavirus* de la familia. Esto incluye el virus de La Crosse, un microorganismo patógeno importante para el ser humano en Estados Unidos (cuadro 38-2). El virus de La Crosse es una causa importante de encefalitis y meningitis aséptica en los niños, sobre todo en la parte norte del Medio Oeste. Casi todos los casos se presentan entre julio y septiembre en los niños menores de 16 años de edad. Hay casi 80 a 100 casos de encefalitis de La Crosse informados por año.

Los virus son transmitidos por diversos mosquitos de bosques, principalmente *Aedes triseriatus.* Los principales hospedadores vertebrados son pequeños mamíferos como ardillas arborícolas, ardillas terrestres y conejos. La infección humana es tangencial. La hibernación puede ocurrir en los huevecillos del mosquito vector. El virus es transmitido por vía transovárica y los mosquitos adultos que se desarrollen a partir de los huevos infectados pueden transmitir el virus por la picadura.

El inicio de la infección por el virus de encefalitis de California es brusco, por lo general con cefalea intensa, fiebre y en algunos casos vómito y convulsiones. Casi la mitad de los pacientes presentan convulsiones y la tasa de mortalidad de casos es de casi 1%. Con menos frecuencia sólo hay meningitis aséptica. La enfermedad persiste por 10 a 14 días aunque la convalecencia puede ser prolongada. Las secuelas neurológicas son infrecuentes. Hay muchas infecciones por cada caso de encefalitis. La confirmación serológica mediante pruebas HI, ELISA o Nt se realiza en especímenes de sueros de etapa aguda y convaleciente.

FIEBRE POR LA MOSCA DE LA ARENA

Ésta es una enfermedad leve transmitida por insectos que suele presentarse en países limítrofes con el mar Mediterráneo, así como en Rusia, Irán, Pakistán, India, Panamá, Brasil y Trinidad. La fiebre por la mosca de la arena (también llamada fiebre por *Phlebotomus*) es causada por un bunyavirus del género *Phlebovirus* (cuadro 38-1).

La enfermedad es transmitida por la mosca de la arena hembra, *Phlebotomus papatasii,* un mosquito de sólo unos cuantos milímetros de tamaño. En los trópicos, la mosca de la arena prevalece todo el año; y en climas más fríos, sólo durante las estaciones de verano. Ocurre la transmisión transovárica.

En zonas endémicas, la infección es frecuente en la infancia. Cuando llegan los adultos no inmunes (p. ej., las tropas), pueden ocurrir grandes brotes epidémicos entre los nuevos inmigrantes y que a veces se confunden con paludismo.

En el ser humano, la picadura de la mosca de la arena produce pápulas pruriginosas pequeñas de la piel y persisten hasta por cinco días. La enfermedad comienza bruscamente después de un periodo de incubación de tres a seis días. El virus se detecta en la sangre muy poco antes del inicio de los síntomas. Las manifestaciones clínicas consisten en cefalea, malestar general, náusea, fiebre, fotofobia, rigidez del cuello y la espalda, dolor abdominal y leucopenia. Todos los pacientes se restablecen. No se dispone de ningún tratamiento específico.

Las moscas de la arena son más frecuentes justo arriba del suelo. Debido a su tamaño pequeño pueden pasar a través de mallas y redes de mosquitos ordinarias. El insecto se alimenta principalmente por la noche. La prevención de la enfermedad en zonas endémicas se basa en el empleo de repelentes de insectos durante la noche y de insecticidas residuales y en los alojamientos de vivienda.

FIEBRE DEL VALLE DE RIFT

El microorganismo que produce esta enfermedad, un bunyavirus del género *Phlebovirus,* es un virus zoonótico transmitido por el mosquito que es principalmente patógeno en el ganado doméstico. Los seres humanos se infectan en forma secundaria durante el curso de epizootias en animales domesticados. Es frecuente la infección en técnicos de laboratorio.

Las epizootias se presentan de forma periódica después de lluvias intensas que permiten explosiones del vector primario

y el portador (mosquitos de la especie *Aedes*). La viremia en los animales desencadena infección de otros vectores con transmisión colateral al ser humano. La transmisión a las personas es principalmente por el contacto con sangre y líquidos corporales de animales infectados y picaduras de mosquitos.

La enfermedad en el ser humano suele ser una enfermedad febril leve de duración corta y el restablecimiento casi siempre es completo. Las complicaciones comprenden retinitis, encefalitis y fiebre hemorrágica. Puede ocurrir una ceguera permanente (1 a 10% de los casos con retinitis). Alrededor de 1% de los pacientes infectados mueren.

La fiebre del Valle de Rift existe casi en todos los países subsaharianos. Se propagó en 1977 a Egipto, donde produjo enormes pérdidas de corderos y ganado vacuno, y millares de casos humanos, con 600 fallecimientos. En 1987 ocurrió un brote epidémico considerable en África Occidental y en 1997 en África Oriental. La primera propagación documentada del virus de la fiebre del Valle de Rift fuera de África ocurrió en el año 2000 en Yemen y Arabia Saudita.

VIRUS DE LA FIEBRE GRAVE CON SÍNDROME DE TROMBOCITOPENIA

Este virus se descubrió en 2010 como causa de fiebre intensa con síndrome de trombocitopenia en el noreste y centro de China. La enfermedad consiste en fiebre, trombocitopenia, leucopenia y cifras elevadas de enzimas hepáticas. Se cree que se transmite por garrapatas, aunque puede pasar de persona a persona. Los seres humanos rara vez son seropositivos, pero los animales domésticos a menudo lo son, incluidos ovejas, ganado vacuno, cerdos, perros, pollos y hasta 80% de las cabras. La infección tiene una tasa de morbilidad cercana a 12%. El diagnóstico se basa en serología o PCR con empleo de regiones altamente conservadas de los tres segmentos genómicos L, M y S.

VIRUS DE HEARTLAND

En 2012 se descubrió en Missouri un phlebovirus de la familia los bunyavirus; recibió en nombre de virus de Heartland. Se identificaron ocho casos de infección en seres humanos; uno fue mortal. La enfermedad consiste en fiebre, fatiga, anorexia, náusea o diarrea, leucopenia, trombocitopenia y concentraciones elevadas de enzimas hepáticas. Se cree que las garrapatas de Lone Star transmiten el virus. Otro flebovirus relacionado, el virus de Lone Star, se ha obtenido de las garrapatas de Lone Star y puede infectar líneas celulares de seres humanos, pero no se han informado casos en personas.

VIRUS DE LA FIEBRE POR GARRAPATA DE COLORADO

Este virus es miembro de la familia Reoviridae (capítulo 37); se clasifica en el género *Coltivirus*. Otros miembros de la familia Reoviridae incluyen el virus de la peste equina africana y del catarro común en animales dentro del género *Orbivirus*. El rotavirus y ortorreovirus no tienen vectores artrópodos.

La fiebre por la garrapata de Colorado, también denominada fiebre de la montaña o fiebre por la garrapata, es transmitida por una garrapata (cuadro 38-1). El virus al parecer es antigénicamente diferente de otros virus conocidos y sólo se reconoce un tipo antigénico.

La fiebre por la garrapata de Colorado es una enfermedad febril leve, sin exantema. El periodo de incubación es de cuatro a seis días. La enfermedad tiene una instauración súbita con fiebre y mialgias. Los síntomas consisten en cefaleas, mialgias y artralgias, letargias y náusea y vómito. La temperatura suele ser difásica. Después del primer ataque de dos días, el paciente puede sentirse bien, pero los síntomas reaparecen y duran tres a cuatro días más. La enfermedad en el ser humano cede de manera espontánea (cuadro 38-2).

El virus puede aislarse de sangre por la inoculación de cultivos celulares. La viremia puede persistir por cuatro semanas o más. Los análisis de RT-PCR permiten detectar RNA viral en eritrocitos y en plasma. Se producen anticuerpos neutralizantes específicos en la segunda semana de la enfermedad que se pueden detectar mediante pruebas de reducción en placa. Otros análisis serológicos son ELISA y las pruebas de anticuerpo fluorescente. Se considera que una sola infección produce una inmunidad prolongada.

Cada año se notifican varios centenares de casos de fiebre por la garrapata de Colorado pero se considera que constituyen sólo una fracción de todos los casos. La enfermedad está limitada a zonas donde está distribuida la garrapata de la madera *Dermacentor andersoni*, principalmente en la parte occidental de Estados Unidos y en el suroeste de Canadá. Los pacientes han estado en una zona infestada por garrapatas antes de comenzar con los síntomas. Los casos ocurren principalmente en varones jóvenes, el grupo con mayor exposición a las garrapatas. *D. andersoni* recogida de la naturaleza puede portar el virus. Esta garrapata es un verdadero portador pasivo y el virus se transmite por vía transovárica por la hembra adulta. La infección natural ocurre en roedores, los cuales funcionan como hospedadores para las etapas inmaduras de la garrapata.

No se dispone de ningún tratamiento específico. La enfermedad puede prevenirse si se evitan las zonas infestadas por la garrapata mediante el empleo de prendas protectoras o de sustancias químicas repelentes.

FIEBRES HEMORRÁGICAS TRANSMITIDAS POR ROEDORES

Las fiebres hemorrágicas zoonóticas transmitidas por roedores son las fiebres asiática (p. ej., virus de Hantaan y Seúl), sudamericana (p. ej., virus de Junin y Machupo) y africana (virus de Lassa). Los hantavirus también producen un síndrome pulmonar por hantavirus en los países de América (p. ej., el virus Sin Nombre). Se desconocen los reservorios naturales de los virus de Marburg y Ébola (fiebre hemorrágica africana) pero se sospecha que son roedores o murciélagos. Los virus causantes se clasifican como bunyavirus, arenavirus y filovirus (cuadro 38-1).

ENFERMEDADES POR BUNYAVIRUS

Los hantavirus se clasifican en el género *Hantavirus* de la familia Bunyaviridae. Los virus se encuentran en todo el mundo y producen dos enfermedades humanas graves y a menudo

mortales: la fiebre hemorrágica con el síndrome renal (HFRS, *hemorrhagic fever with renal syndrome)* y el síndrome pulmonar por hantavirus (HPS, *hantavirus pulmonary syndrome*). Se calcula que cada año se presentan 100 000 a 200 000 casos de infección por hantavirus. Existen varios hantavirus distintivos, cada uno de los cuales se asocia a un hospedador roedor específico. Las infecciones por virus en los roedores son de por vida y no tienen efectos nocivos. La transmisión entre los roedores al parecer ocurre en forma horizontal y la transmisión al ser humano ocurre por la inhalación de aerosoles de secreciones de roedores (orina, heces, saliva). La presencia de enfermedades asociadas a hantavirus está determinada por la distribución geográfica de los reservorios de roedores.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal

La HFRS es una infección viral aguda que produce una nefritis intersticial que puede desencadenar insuficiencia renal aguda e insuficiencia renal en las formas graves de la enfermedad. Los virus Hantaan y Dobrava producen la enfermedad grave que ocurre en Asia sobre todo en China, Rusia y Corea, así como en Europa, principalmente en los Balcanes. Puede presentarse hemorragia generalizada y choque con una tasa de mortalidad de casos de 5 a 15%. Una forma moderada de HFRS causada por el virus de Seúl se presenta en toda Euroasia. En una forma clínica leve, denominada nefropatía epidémica, que es causada por el virus de Puumala y permanece en Escandinavia, la nefritis por lo general se resuelve sin complicaciones hemorrágicas y los fallecimientos son infrecuentes (< 1 por ciento).

Se sabe que las ratas urbanas se infectan de manera persistente con hantavirus y se ha señalado que las ratas en buques comerciales pueden haber dispersado los hantavirus por todo el mundo. Las encuestas serológicas señalaban que las ratas pardas de Noruega en Estados Unidos están infectadas con el virus de Seúl. Se demostró que las ratas de laboratorio infectadas eran fuentes de brotes epidémicos de Hantaan en institutos científicos de Europa y Asia, pero estas infecciones no se han detectado en ratas de laboratorio criadas en Estados Unidos. Las infecciones por hantavirus han ocurrido en personas cuyas ocupaciones les imponen el contacto con ratas (p. ej., estibadores).

El HFRS se trata con terapia de apoyo. La prevención depende del control de los roedores y de la protección contra la exposición a sus excrementos y material contaminado.

Síndrome pulmonar por hantavirus

En 1993 ocurrió en Estados Unidos un brote epidémico de enfermedad respiratoria grave, ahora designado el síndrome pulmonar por hantavirus (HPS, *hantavirus pulmonary syndrome*). Se observó que se debía a un nuevo hantavirus (virus Sin Nombre). Este microorganismo fue el primer hantavirus reconocido como causa de la enfermedad en Norteamérica y el primero en causar un síndrome de dificultad respiratoria



FIGURA 38-8 Distribución geográfica de los hantavirus en América, señalados con los roedores peculiares que son sus reservorios (en cursivas). Los hantavirus cuya patogenicidad se ha confirmado se señalan en *rojo*. (Reproducida con autorización de MacNeil A, Nichol ST, Spiropoulou CF: Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res* 2011:162:138. Copyright Elsevier.)

del adulto principalmente. Desde entonces, se han detectado múltiples hantavirus en roedores del norte, el centro y Sudamérica (cuadro 38-2) (figura 38-8).

El ratón de patas blancas (*Peromyscus maniculatus)* es el principal roedor que porta el virus Sin Nombre. Dicho roedor tiene una amplia distribución y casi 10% de los analizados muestran signos de infección por el virus Sin Nombre. Otros hantavirus que se sabe producen el HPS en Estados Unidos son el virus de Nueva York, el virus del Canal Griego Negro y el virus de Bayou, cada uno de los cuales tiene un hospedador roedor diferente. El HPS es más frecuente en Sudamérica que en Estados Unidos. El virus de los Andes es un hantavirus causal y se encuentra en Argentina y Chile. Se ha identificado el virus choclo en Panamá.

Las infecciones con hantavirus no son comunes; tienen menos infecciones subclínicas, en particular con el virus Sin Nombre. El HPS en general es grave; se han informado tasas de mortalidad de 30% o mayores. Esta tasa de mortalidad de casos es sustancialmente más elevada que la de otras infecciones por hantavirus. La enfermedad comienza con fiebre, cefalea y mialgias, seguida de edema pulmonar rápidamente progresivo, que a menudo desencadena dificultad respiratoria grave. No hay signos de hemorragia. Se detectan antígenos hantavirales en células endoteliales y macrófagos de pulmón, corazón, bazo y ganglios linfáticos. La patogenia de la HPS implica la alteración funcional del endotelio vascular. Pocas veces ocurre la transmisión interpersonal de los hantavirus aunque se ha observado durante brotes epidémicos de HPS causado por el virus de los Andes.

El diagnóstico de laboratorio depende de la detección del ácido nucleico viral mediante RT-PCR, la detección de antígenos virales en tejidos fijados mediante inmunohistoquímica o la detección de anticuerpos específicos utilizando proteínas recombinantes. Se puede utilizar una prueba de ELISA para detectar anticuerpos IgM en el diagnóstico de las infecciones agudas. Una elevación de cuatro tantos en el valor cuantitativo de anticuerpo IgG entre los sueros de fase aguda y convaleciente es diagnóstica. Los anticuerpos IgG son de larga duración. El aislamiento de los hantavirus es difícil y exige el empleo de instalaciones de recolección.

El tratamiento actual del HPS consiste en el mantenimiento de la oxigenación adecuada y el apoyo del funcionamiento hemodinámico. El fármaco antiviral ribavirina tiene cierta utilidad como tratamiento del HSP. Las medidas preventivas se basan en el control de los roedores y en evitar el contacto con ellos y sus excrementos. Debe tenerse cuidado para evitar la inhalación de secreciones secas en aerosol al limpiar las estructuras infestadas por roedores.

ENFERMEDADES POR ARENAVIRUS

Los arenavirus se tipifican por las partículas pleomorfas que contienen un genoma de RNA segmentado; están rodeadas por una envoltura con peplómeros grandes de forma de bastón; miden 50 a 300 nm de diámetro (promedio de 110 a 130 nm) (figura 38-1). El genoma del arenavirus consta de dos moléculas de RNA monocatenario con organización genética bipolar inusual.

Basado en datos de frecuencia, los arenavirus se dividen en virus del Viejo Mundo (p. ej., el virus de Lassa) y los virus del Nuevo Mundo. Esta última clasificación se subdivide en tres grupos en los que el grupo A comprende el virus de Pichinde y el grupo B contiene los virus patógenos humanos, como el virus de Machupo. Algunas cepas, como el virus del arroyo de Whitewater, al parecer son recombinaciones entre los linajes de los virus del Nuevo Mundo A y B.

Los arenavirus establecen infecciones crónicas en roedores. Cada virus por lo general se relaciona con una sola especie de roedor. La distribución geográfica de un determinado arenavirus es determinada en parte por la gama de sus hospedadores roedores. Los seres humanos se infectan cuando entran en contacto con secreciones de roedores. Algunos virus producen fiebre hemorrágica grave. Se sabe que diversos arenavirus infectan el feto y pueden causar muerte fetal en el ser humano.

Múltiples arenavirus producen enfermedad en el ser humano, incluidos los de Lassa, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, arroyo de Whitewater y de la coriomeningitis linfocítica (LCM, *lymphocytic choriomeningitis)* (cuadro 38-1). Puesto que estos arenavirus se transmiten por aerosoles, se debe tener gran cuidado al procesar especímenes de roedores y personas. En el laboratorio se requieren condiciones de alta calidad en la manipulación de recipientes. La transmisión de arenavirus en los hospedadores roedores naturales puede presentarse de maneras vertical y horizontal. La leche, la saliva y la orina pueden intervenir en la transmisión. Se piensa que los vectores artrópodos no intervienen.

En la figura 38-9 se muestra un ciclo de replicación generalizada. Los ribosomas del hospedador son incorporados en la cápside durante la morfogénesis de las partículas virales. Los arenavirus no suelen producir efectos citopáticos cuando se replican en células cultivadas.

Fiebres hemorrágicas de Lassa y de Lujo

Los primeros casos reconocidos de la fiebre de Lassa se presentaron en 1969 en estadounidenses asentados en el poblado nigeriano de Lassa. El virus de Lassa es muy virulento; la tasa de mortalidad es de casi 15% en pacientes hospitalizados por su infección. En general, alrededor de 1% de las infecciones por el virus de Lassa son mortales. En África Occidental, se calcula que la tasa anual puede alcanzar varios centenares de miles de infecciones y 5 000 muertes. El virus es activo en todos los países de África Occidental localizados entre Senegal y la República del Congo. Algunos casos esporádicos identificados fuera de la zona endémica suelen ser importados, a menudo por personas que regresan de África Occidental.

El periodo de incubación para la fiebre de Lassa es de una a tres semanas a partir del tiempo de la exposición. La enfermedad puede afectar muchos órganos y sistemas, aunque los síntomas varían en cada paciente. La instauración es gradual con fiebre, vómito y dorsalgia, así como dolor torácico. La enfermedad se caracteriza por fiebre muy alta, úlceras en la boca, mialgias intensas, exantemas con hemorragias, neumonía y lesiones cardiacas y renales. La sordera es una complicación frecuente que afecta a casi 25% de los casos durante el restablecimiento; a menudo es permanente.

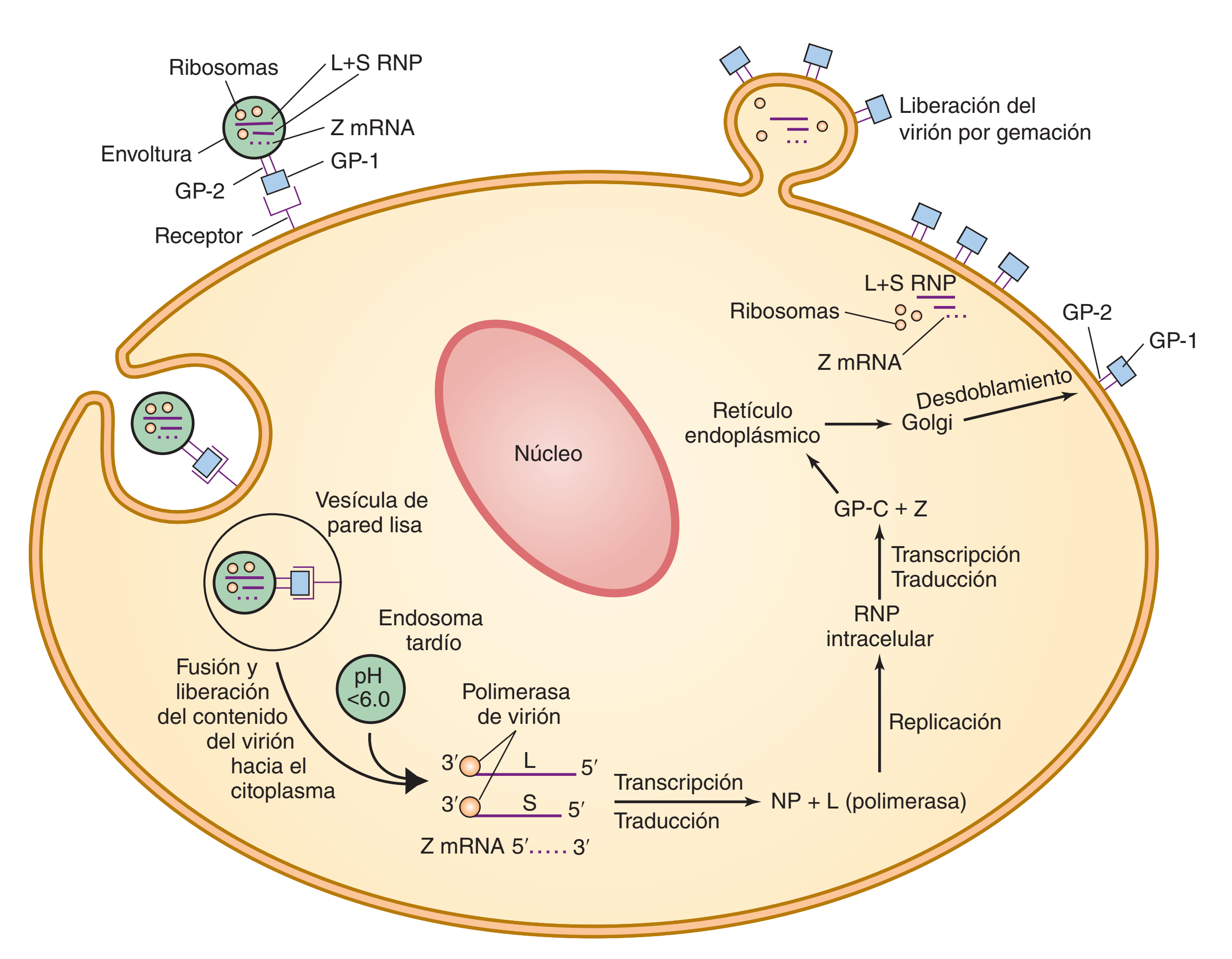


FIGURA 38-9 El ciclo de vida de arenavirus. (Cortesía de PJ Southern.)

Las infecciones por el virus de Lassa producen muerte fetal en más de 75% de las embarazadas. Durante el tercer trimestre, la mortalidad materna se incrementa (30%) y la fetal es muy elevada (> 90%). Ocurren casos febriles benignos.

El diagnóstico suele consistir en la detección de anticuerpos IgM e IgG mediante ELISA. Se puede utilizar la inmunohistoquímica para detectar antígenos virales en especímenes de tejidos en la necropsia. Se pueden detectar secuencias virales utilizando los análisis de RT-PCR en laboratorios de investigación.

La rata doméstica (*Mastomys natalensis*) es el principal portador roedor de virus de Lassa. Las medidas de control de los roedores constituyen una forma de minimizar la propagación del virus pero a menudo no son prácticas en las zonas endémicas. El virus se puede transmitir por el contacto humano. Cuando el virus se propaga en un hospital, el contacto humano es el mecanismo de transmisión. Los procedimientos de enfermería meticulosos para impedir la transmisión y las precauciones habituales para evitar el contacto con la sangre y los líquidos corporales contaminados por el virus pueden prevenir la transmisión al personal hospitalario.

El fármaco antiviral ribavirina es el compuesto de elección para tratar la fiebre de Lassa y es muy eficaz si se administra en las primeras etapas del proceso patológico. No se dispone de ninguna vacuna, aunque un recombinante viral de la vacuna que expresa el gen de la glucoproteína del virus de Lassa puede inducir la inmunidad protectora tanto en cobayos como en monos.

En 2008, se identificó el virus de Lujo como una causa de la fiebre hemorrágica en el sur de África. La fuente de la infección no se conoce; se transmitió del primer paciente a tres trabajadores del sistema de salud. El único sobreviviente fue un cuarto trabajador sanitario infectado subsecuentemente y tratado con ribavirina (tasa de mortalidad de 80%). Se cree que los roedores son el hospedador primario, como sucede con otros arenavirus.

Fiebres hemorrágicas sudamericanas

Con base en estudios serológicos y filogenéticos del RNA viral, los arenavirus sudamericanos se consideran todos miembros del complejo Tacaribe. La mayor parte tiene reservorios roedores cricétidos. Los virus tienden a tener una prevalencia en una zona en concreto, de distribución limitada. Se han descubierto múltiples virus; los microorganismos patógenos humanos importantes son los virus íntimamente relacionados de Junin, Machupo, Guanarito y Sabia. La hemorragia es más frecuente en las fiebres de Argentina (Junin) y otras fiebres hemorrágicas sudamericanas que en la fiebre de Lassa.

La **fiebre hemorrágica de Junin** (fiebre hemorrágica argentina) es un importante problema de salud pública en determinadas zonas agrícolas de Argentina; se han comunicado más de 18 000 casos entre 1958 y 1980 con una tasa de mortalidad de 10 a 15% en los pacientes no tratados. Cada año siguen presen-

tándose muchos casos. La enfermedad tiene una notable variación estacional y la infección ocurre casi exclusivamente en agricultores que trabajan en campos de maíz y trigo, y que están expuestos al roedor que la porta, *Calomys musculinus*.

El virus de Junin produce inmunodepresión mediada por factores humorales y células; las muertes debidas a la fiebre hemorrágica de Junin pueden estar relacionadas con una incapacidad para iniciar una respuesta inmunitaria mediada por células. La administración de plasma humano de etapa convaleciente a los pacientes durante la primera semana de la enfermedad redujo la tasa de mortalidad desde 15 a 30% hasta 1%. Algunos de estos pacientes presentan un síndrome neurológico autolimitado tres a seis semanas después. Se utiliza una vacuna eficaz de virus de Junin vivos atenuados para vacunar a las personas con alto riesgo en Sudamérica.

El primer brote de la **fiebre hemorrágica de Machupo** (fiebre hemorrágica boliviana) se identificó en Bolivia en 1962. Se calculó que 2 000 a 3 000 personas eran afectadas por la enfermedad con una tasa de mortalidad de casos de 20%. En Bolivia se llevó a cabo un programa de control eficaz de los roedores dirigido contra *Calomys callosus* infectados, el hospedador del virus de Machupo; esto ha reducido de manera considerable el número de casos de la fiebre mencionada.

En 1990 se identificó el **virus de Guanarito** (el microorganismo causante de la **fiebre hemorrágica venezolana**); tiene una tasa de mortalidad de casi 33%. Surgió probablemente al talar la selva para establecer granjas pequeñas. El **virus de Sabia** se aisló en 1990 en un caso mortal de fiebre hemorrágica en Brasil. Ambos virus, el de Guanarito y de Sabia, producen una enfermedad que se parece a la fiebre hemorrágica de Argentina y probablemente tiene tasas de mortalidad similares.

Coriomeningitis linfocítica

El virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM, *lymphocytic choriomeningitis*) se descubrió en 1933 y está disperso en Europa y en América. Su vector natural es el ratón doméstico silvestre, *Mus musculus*. Es endémico en los ratones pero también puede infectar a otros roedores. Casi 5% de los ratones en todo Estados Unidos portan el virus. Puede infectar de manera crónica a colonias de ratones o cricetos e infectar a roedores mascotas.

El virus de LCM a veces se transmite al ser humano, al parecer a través de los excrementos de ratones. No hay pruebas de la diseminación interpersonal horizontal. La LCM en el ser humano es una enfermedad aguda que se manifiesta por meningitis aséptica o un padecimiento seudogripal sistémico leve. Pocas veces se presenta una encefalomielitis grave o una enfermedad sistémica mortal en personas sanas. La mortalidad es inferior a 1%. Muchas infecciones son asintomáticas. El periodo de incubación suele ser de una a dos semanas si la enfermedad persiste durante una a tres semanas.

Las infecciones por el virus de la LCM pueden ser graves en las personas con alteración del sistema inmunitario. En 2005, cuatro receptores de trasplante de órganos sólidos en Estados Unidos se infectaron de un donador de órgano común. Tres de los cuatro receptores fallecieron 23 a 27 días después del trasplante. Se determinó que la fuente del virus era un criceto recién adquirido como mascota por el donador de órganos. El virus de la LCM también puede transmitirse verticalmente de la madre al feto y la infección del feto en las primeras etapas del embarazo puede desencadenar anomalías graves, como hidrocefalia, ceguera y muerte fetal.

Las infecciones suelen diagnosticarse en forma retrospectiva mediante el estudio serológico utilizando ELISA para anticuerpos de IgM e IgG. Otros métodos diagnósticos son la tinción inmunohistoquímica de los tejidos por antígenos virales, la RT-PCR para ácido nucleico viral y el cultivo viral utilizando células de Vero. Los estudios serológicos en zonas urbanas han demostrado tasas de infección en el ser humano que fluctúan de 2 a 5 por ciento.

Los estudios experimentales han demostrado que la respuesta inmunitaria puede ser protectora o nociva en los ratones infectados por el virus de la LCM. Los linfocitos T son necesarios para controlar la infección pero también desencadenan enfermedad mediada por factores inmunitarios. El resultado depende de la edad, el estado inmunitario de los antecedentes genéticos del ratón, así como la vía de inoculación del virus. Los ratones infectados en la edad adulta pueden presentar una enfermedad rápidamente mortal a consecuencia de una respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T en el cerebro. Los ratones con infección congénita o neonatal no se enferman de manera aguda, pero tienen una infección persistente de por vida. No logran despejar la infección porque se infectaron antes que madurara el sistema inmunitario celular. Presentan una respuesta de anticuerpo potente que puede desencadenar complejos de antígeno-anticuerpo virales en la circulación sanguínea y una enfermedad por complejos inmunitarios.

ENFERMEDADES POR FILOVIRUS

Clasificación y propiedades de los filovirus

Los filovirus son partículas pleomorfas que se presentan como largas hebras filamentosas o con formas singulares de 80 nm de diámetro (figura 38-1). Las partículas por unidad de longitud son desde 665 nm (Marburg) hasta 805 nm (Ébola). Los dos filovirus conocidos (virus de Marburg y virus de Ébola) son antigénicamente diferentes y se clasifican en géneros distintos (cuadro 38-1). Los cuatro subtipos del virus de Ébola (Zaire, Sudán, Reston, Costa de Marfil) difieren entre sí hasta en 40% a nivel del nucleótido pero comparten algunos epítopos frecuentes. Los subtipos al parecer son estables en el tiempo.

El genoma grande del filovirus es un RNA monocatenario, no segmentado de polaridad negativa de 19 kb de tamaño y contiene siete genes (figura 38-10). Una estrategia de codificación inusual en los virus de Ébola consiste en que la glucoproteína de la envoltura (EP, *envelope glycoprotein)* es codificada en dos marcos de lectura y para expresarse es necesaria la edición transcripcional o el cambio de marco de lectura traduccional. La glucoproteína constituye las espigas de la superficie viral en forma de recortes de 10 nm de longitud. Los viriones son liberados a través de brotes de la membrana plasmática.

Los filovirus son muy virulentos y exigen instalaciones para una recolección máxima (nivel de bioseguridad 4) para trabajos de laboratorio. La infecciosidad de filovirus es destruida por el calentamiento durante 30 min a una temperatura

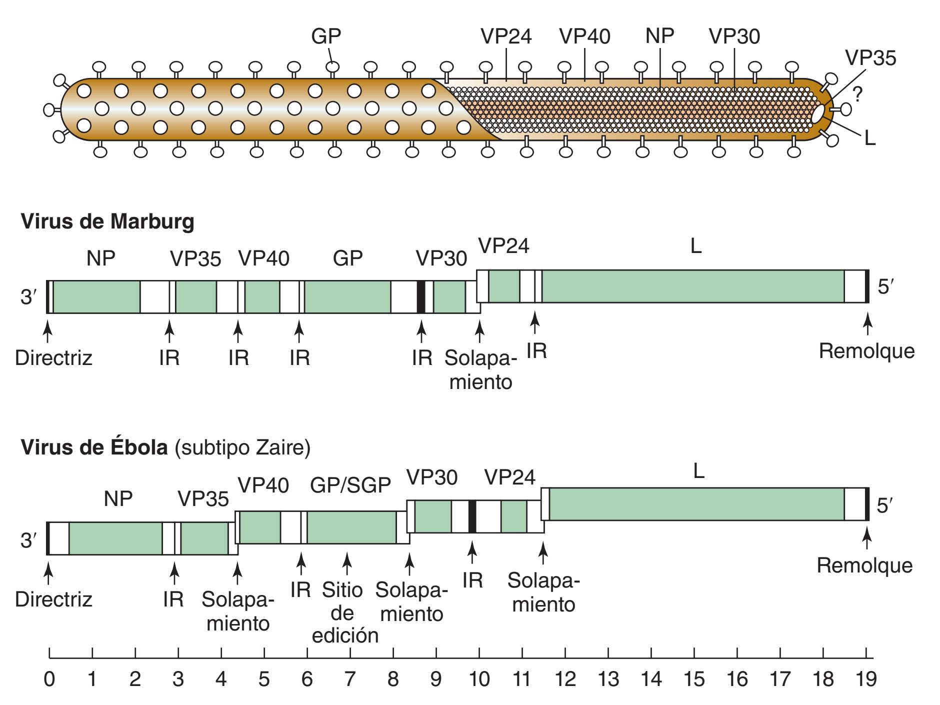


FIGURA 38-10 Estructura del virión y organización del genoma de los filovirus. Se muestra la organización del genoma del virus de Marburg y el virus de Ébola subtipo Zaire. El diagrama del virión muestra el RNA monocatenario de polaridad negativa encerrado en la nucleocápside y envuelto en una membrana de bicapa lipídica. Las proteínas estructurales asociadas a la nucleocápside son la nucleoproteína (NP), VP30, VP35 y la proteína de polimerasa (L). Las proteínas relacionadas con la membrana son la proteína de la matriz (VP40), VP24 y GP (glucoproteína de peplómero). Los genes que codifican las proteínas estructurales se identifican si se trazan en escala en las estructuras del genoma. Las zonas sombreadas denotan las regiones de polaridad positiva y las zonas blancas las secuencias de polaridad negativa. Los genes comienzan con un lugar de inicio de transcripción conservado y terminan con un lugar de detenimiento de la transcripción (poliadenilación); los genes adjuntos son separados entre sí por una región intergénica (IR) o se solapan uno a otro. El lugar en el cual se añade la A adicional dentro del gen de GP durante la edición transcripcional se indica en el diagrama del virus de Ébola. El producto génico primario del gen de GP de los virus de Ébola es SGP, una glucoproteína no estructural secretada. En los extremos 3′ y 5′ de los genomas están las secuencias directrices y rastreadoras complementarias, respectivamente. (Adaptada con autorización de Peters CJ *et al.:* Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. En: Fields BN *et al.* [editors]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

de 60 °C, mediante radiación ultravioleta y γ, con solventes de lípidos y mediante colorantes y desinfectantes fenólicos. Se sospecha que los vectores y hospedadores naturales son los murciélagos de la fruta.

Fiebres hemorrágicas africanas (virus de Marburg y de Ébola)

Los virus de Marburg y Ébola son muy virulentos en primates humanos y no humanos, con infecciones que por lo general terminan en el fallecimiento del paciente. El periodo de incubación es de tres a nueve días para la enfermedad por el virus de Marburg y de dos a 21 días para la infección por el virus de Ébola. Producen enfermedades agudas similares que se caracterizan por fiebre, cefalea, faringitis y mialgias, y se acompañan de dolor abdominal, vómito, diarrea y exantema, con hemorragia interna y externa que a menudo desencadena choque y muerte. Los filovirus tienen un tropismo para las células de sistemas de macrófagos, células dendríticas, fibroblastos intersticiales y células endoteliales. Se encuentran valores muy altos del virus en muchos tejidos, incluidos hígado, bazo, pulmones y riñones, así como en la sangre y otros líquidos. Estos virus tienen las tasas de mortalidad más altas (25 a 90%) de todas las fiebres hemorrágicas virales.

La enfermedad por el virus de Marburg se reconoció en 1967 entre técnicos de laboratorio expuestos a tejidos de monos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*) importados a Alemania y Yugoslavia. La transmisión de los pacientes al personal se produjo con elevadas tasas de mortalidad. Las encuestas de anticuerpo han señalado que el virus está presente en África Oriental y produce infección en simios y seres humanos. Los casos registrados de la enfermedad son infrecuentes, pero se han documentado brotes epidémicos en Kenia, Sudáfrica, República Democrática del Congo y, en 2005, en Angola. El virus de Marburg puede infectar cobayos, ratones, cricetos, monos y diversos sistemas de cultivos celulares.

El virus de Ébola fue descubierto en 1976 cuando ocurrieron dos epidemias graves de fiebre hemorrágica en Sudán y Zaire (ahora la República Democrática del Congo). Los brotes comprendieron más de 500 casos y por lo menos 400 decesos debidos a fiebre hemorrágica clínica. En cada brote, el personal hospitalario se infectó por el contacto cercano y prolongado con los pacientes, su sangre o sus secreciones. Estos subtipos del virus de Ébola (Zaire, Sudán) son muy virulentos. El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la muerte del paciente es de siete a ocho días.

Se han presentado brotes subsiguientes de fiebre hemorrágica de Ébola en Uganda (2000), República del Congo (1995,

2001, 2002, 2003), Gabón (1994, 1996, 1997, 2002), Sudáfrica (1996) y Sudán (2004). Las epidemias a menudo se detienen por la instauración de los métodos de enfermería para impedir la transmisión y la capacitación del personal hospitalario, junto con las medidas de cuarentena estricta.

El brote de Ébola más conocido hasta ahora tuvo lugar en África Occidental (2014), con más de 10 000 muertes a la fecha en Guinea, Liberia y Sierra Leona. A pesar de la respuesta internacional y las medidas de cuarentena, el brote no ha sido controlado y persiste el riesgo de diseminación a otras regiones. Se han identificado casos importados en otros seis países, con transmisión secundaria que parece haber sido controlada. El 30 de septiembre de 2014, los CDC confirmaron el primer caso de Ébola en Estados Unidos relacionado con un viaje.

Las infecciones por filovirus al parecer son inmunosupresoras. Los casos mortales a menudo muestran alteraciones de la respuesta inmunitaria humoral. Sin embargo, los anticuerpos de filovirus se producen a medida que los pacientes se restablecen y son detectables mediante ELISA. Los antígenos virales en el suero pueden detectarse mediante dicho método, lo que proporciona una prueba de detección rápida de muestras humanas. La RT-PCR también se puede utilizar en especímenes clínicos. Un riesgo para llevar a cabo las pruebas para filovirus es que las pruebas del paciente y otros especímenes pueden contener virus virulentos. Las pruebas pueden llevarse a cabo sólo bajo condiciones de aislamiento biológico adecuadas. Se pueden cultivar cepas de virus recientes en linajes celulares como los linajes Vero y los linajes celulares de monos MA-104.

Es posible que los virus de Marburg y de Ébola tengan un hospedador (reservorio) pasivo, muy probablemente el murciélago de la fruta; el virus se transmite a las personas sólo de manera accidental. Los monos no se consideran portadores, ya que la mayor parte de los animales infectados mueren con demasiada rapidez para mantener la supervivencia del virus. Las infecciones humanas son muy contagiosas para los contactos humanos, por lo general por el contacto directo con la sangre o los líquidos corporales. Es característico que los brotes epidémicos de la infección por el virus de Ébola se relacionen con introducción del virus en la comunidad por una persona infectada, seguida de la diseminación de persona a persona, a menudo en las instalaciones médicas.

Puesto que todavía se desconocen los portadores naturales de los virus de Marburg y Ébola, no se pueden organizar actividades de control. El empleo de las instalaciones de aislamiento en centros hospitalarios sigue siendo el medio más eficaz de controlar los brotes de enfermedad de Ébola. Deben ponerse en práctica las técnicas estrictas de enfermería para impedir la transmisión, y tomarse cuidados extremos en el manejo de la sangre, las secreciones, los tejidos y los desechos infectados. Al personal que interviene en la transportación y el cuidado de primates no humanos se le debe dar instrucciones sobre los riesgos potenciales de la manipulación de estos animales.

No se dispone de tratamiento antiviral específico, si bien los tratamientos experimentales basados en anticuerpos están bajo investigación. El tratamiento tiene como objetivo mantener la función renal y el equilibrio electrolítico, así como contrarrestar la hemorragia y el choque. No hay vacuna, pero están en desarrollo algunas.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los arbovirus y los virus transmitidos por roedores muestran ciclos complejos de transmisión en que participan artrópodos o dichos animales. Los virus se clasifican en diferentes familias (Arena-, Bunya-, Flavi-, Reo- y Togaviridae).
- Las enfermedades por arbovirus pertenecen a tres categorías generales: febriles (por lo común benignas), encefalitis y fiebres hemorrágicas; estas dos últimas categorías son letales.
- Las principales enfermedades transmitidas por mosquitos son la fiebre amarilla, el dengue, la encefalitis japonesa B, la fiebre del Nilo Occidental y la encefalitis equina oriental.
- Todos los alphavirus en la familia togaviridae, guardan relación antigénica y todos los flavivirus tienen la misma característica.
- Las infecciones no declaradas son frecuentes en caso de virus de encefalitis y rara vez hay invasión del sistema nervioso.
- Los humanos son hospedadores accidentales de los arbovirus y no son esenciales para los ciclos de vida de tales partículas.
- El virus del Nilo Occidental es la causa principal de encefalitis por Arbovirus en Estados Unidos.
- En el decenio de 1930 se obtuvo la vacuna hecha de virus vivos atenuados de la fiebre amarilla; es muy segura.
- El dengue está distribuido a nivel mundial en regiones tropicales y probablemente constituya la enfermedad viral de seres humanos más importante transmitida por mosquitos.
- El dengue es una enfermedad autorremitente pero la variedad hemorrágica y el síndrome de choque por dengue son cuadros graves que pueden ser mortales.
- El dengue hemorrágico se desarrolla con infecciones secundarias incluso en presencia de anticuerpos ya formados después de una infección primaria con un serotipo viral diferente.
- La encefalitis japonesa B suele dejar secuelas graves, pero no tienen tal característica las infecciones por fiebre amarilla.
- Las principales enfermedades por virus transmitidas por roedores son las infecciones por hantavirus, la fiebre de Lassa y las fiebres hemorrágicas sudamericanas. Se sospecha que los murciélagos o tal vez los roedores sean los hospedadores reservorios de los virus Marburg y Ébola, que causan las fiebres hemorrágicas africanas.
- Las fiebres hemorrágicas transmitidas por roedores son causadas por bunyavirus (hantavirus) y arenavirus (fiebre de Lassa).
- El virus de Lassa está distribuido en África Occidental. En promedio, 1% de las infecciones por tal partícula son mortales y el cuadro en cuestión suele culminar en la muerte del feto.
- Los virus Marburg y Ébola (clasificados como filovirus) aparecen en África Oriental y son fuertemente virulentos para humanos, y sus infecciones suelen culminar en la muerte.

- La prevención de muchas infecciones por arbovirus comprende medidas de protección contra picaduras de mosquitos o garrapatas, erradicación de mosquitos, uso de ropas protectoras y de sustancias químicas repelentes y evitar la permanencia en áreas infestadas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 74 años de edad presenta fiebre, malestar y faringitis, seguidos poco después de náusea, vómito y luego estupor. Se diagnostica encefalitis equina oriental. El control de esta enfermedad en el ser humano podría lograrse mediante la erradicación de uno de los siguientes grupos de animales. ¿Cuál es?
   (A) Caballos
   (B) Aves
   (C) Flebótomos
   (D) Mosquitos
   (E) Garrapatas
2. Un arbovirus frecuente en Oriente Medio, África y el suroeste de Asia apareció inicialmente en Nueva York en 1999. Hacia 2002 el virus se había diseminado por toda la porción continental de Estados Unidos. Este arbovirus es un miembro del complejo antigénico de la encefalitis japonesa B. ¿Cuál es?
   (A) Virus de la encefalitis japonesa B
   (B) Virus de la encefalitis transmitida por la garrapata
   (C) Virus del Nilo Occidental
   (D) Virus del dengue
   (E) Virus de la fiebre del Valle de Rift
3. ¿Cuál de las siguientes descripciones o aseveraciones en torno a la fiebre de Lassa es correcta?
   (A) Se encuentra en África Oriental
   (B) No ocurre la transmisión entre seres humanos
   (C) Pocas veces produce muerte o complicaciones
   (D) Ocurre por el contacto con la rata del caballo *Mastomys natalensis.*
   (E) No se dispone de ningún fármaco que sea eficaz para tratar la fiebre de Lassa
4. Los arbovirus se transmiten por artrópodos succionadores de sangre de un hospedador vertebrado a otro. Los arbovirus se encuentran en las siguientes familias de virus, excepto una. ¿Cuál de las siguientes?
   (A) Togaviridae
   (B) Flaviviridae
   (C) Bunyaviridae
   (D) Reoviridae
   (E) Arenaviridae
5. Un hombre de 27 años de edad presenta fiebre, escalofríos, cefalea y dorsalgia. Cuatro días más tarde presenta fiebre alta e ictericia. Se diagnostica fiebre amarilla. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la fiebre amarilla es correcta?
   (A) El virus es transmitido por mosquitos culícidos en la forma urbana de la enfermedad
   (B) Los simios de la selva son portadores importantes del virus de la fiebre amarilla
   (C) La fiebre amarilla a menudo tiene complicaciones a largo plazo
   (D) Todas las infecciones desencadenan enfermedad manifiesta
   (E) La ribavirina es un tratamiento específico
6. Respecto al caso de la pregunta 5, ¿en cuál región o regiones del mundo ocurre la fiebre amarilla?
   (A) Asia
   (B) África y Sudamérica
   (C) Norteamérica
   (D) África y Oriente Medio
   (E) En todo el mundo
7. Las fiebres hemorrágicas africanas, por los virus de Marburg y Ébola, son enfermedades graves que a menudo terminan en la muerte del paciente. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más exacta respecto al virus de Ébola?
   (A) Se disemina por el contacto con la sangre u otros líquidos corporales
   (B) Es transmitida por mosquitos
   (C) Es un flavivirus
   (D) Produce infecciones pero ninguna enfermedad en primates humanos
   (E) Está antigénicamente relacionado con el virus de la fiebre de Lassa
8. ¿Cuál de los siguientes grupos puede vacunarse en forma sistemática con la vacuna de la fiebre amarilla sin aspectos de seguridad especiales?
   (A) Niños menores de nueve meses de edad
   (B) Embarazadas
   (C) Personas con alteraciones del sistema inmunitario
   (D) Todas las anteriores
   (E) Ninguna de las anteriores
9. ¿Cuál de las siguientes descripciones corresponde a los hantavirus, que son microorganismos patógenos emergentes en Estados Unidos?
   (A) Son arenavirus
   (B) Son transmitidos rápidamente de un ser humano a otro
   (C) Producen síntomas seudogripales seguidos rápidamente de insuficiencia respiratoria aguda
   (D) Son adquiridos por la inhalación de aerosoles de orina de ciervo
   (E) Muestran una alta frecuencia de variación antigénica
10. Un microbiólogo realizaba una necropsia en una cabina de seguridad con flujo laminar en una urraca azul propuesta como parte de un programa de vigilancia de arbovirus total. Se laceró el pulgar mientras utilizaba el bisturí para extraer el cerebro del ave. Cuatro días después presentó cefalea, mialgias y malestar general seguido de fiebres, sudaciones y linfadenopatía. Dos días más tarde comenzó un exantema en su cara y se diseminó hacia el tronco, los brazos y las piernas, persistiendo durante casi tres días. Procuró atención médica y refirió un antecedente de fiebre por dengue, así como inmunizaciones con las vacunas contra la fiebre amarilla y contra la encefalitis japonesa B. Una muestra de suero obtenida el día de la lesión contenía anticuerpo IgG antiflavivirus, según una prueba de enzimoinmunoanálisis de adsorción. Una muestra de suero obtenida 13 días después que comenzó la enfermedad demostró un incremento del valor cuantitativo de anticuerpo IgG antiflavivirus y la presencia de anticuerpo IgM del virus del Nilo Occidental. ¿El médico podría concluir que la causa más probable de la enfermedad del microbiólogo fue cuál virus?
    (A) Virus del dengue
    (B) Virus de la fiebre amarilla
    (C) Virus del Nilo Occidental
    (D) Esofagitis de St. Louis
    (E) No identificable hasta que los valores de anticuerpo neutralizante de sueros pares pudiesen valorarse en comparación con un grupo de arbovirus
11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto al virus del dengue no es correcta?
    (A) Es la enfermedad viral más importante transmitida por el mosquito que afecta al ser humano

(B) Se distribuye en todo el mundo en regiones tropicales
(C) Puede causar una fiebre hemorrágica grave
(D) Hay un tipo antigénico individual
(E) Una forma de la enfermedad se caracteriza por un incremento de la permeabilidad vascular

12. ¿Cuál de las siguientes enfermedades que se presentan en Estados Unidos carece de un vector conocido?
(A) Síndrome pulmonar por hantavirus
(B) Fiebre del Nilo Occidental
(C) Encefalitis de La Crosse
(D) Fiebre de la garrapata de Colorado
(E) Encefalitis de St. Louis

13. Las afirmaciones siguientes respecto a arbovirus son correctas, *excepto*:
(A) La patogenia del síndrome de choque por dengue hemorrágico se acompaña de una respuesta anamnésica heterotípica.
(B) Las aves salvajes son el reservorio del virus de encefalitis, pero no del virus de la fiebre amarilla.
(C) Las garrapatas son el principal vector de transmisión del virus de encefalitis y de la fiebre amarilla.
(D) Se cuenta con una vacuna hecha de virus vivos atenuados que evita eficazmente la fiebre amarilla.

14. De las afirmaciones siguientes respecto a la fiebre amarilla, ¿cuál es *falsa*?
(A) No posee reservorio animal alguno
(B) El nombre de "amarilla" proviene del hecho de que muchas víctimas tienen ictericia
(C) Los mosquitos son hospedadores biológicos del agente causal
(D) En Estados Unidos pueden surgir brotes de la enfermedad porque existe un vector adecuado
(E) Se usa ampliamente una vacuna de virus atenuados para evitar la enfermedad

15. De las afirmaciones siguientes respecto a los hantavirus en Estados Unidos, ¿cuáles son correctas?
(A) Su radio de aparición se limita a los estados del suroeste norteamericano
(B) Son transportadas por los ratones *Peromyscus leucopus*
(C) Los seres humanos infectados muestran un índice de mortalidad superior al 30 por ciento
(D) Fueron identificados originalmente en los comienzos del decenio de 1970
(E) La infección se contrae por exposición a murciélagos en cuevas

Respuestas

1. D	5. B	9. C	13. C
2. C	6. B	10. C	14. A
3. D	7. A	11. D	15. C
4. E	8. E	12. A	

BIBLIOGRAFÍA

Briese T, Paweska JT, McMullan LK, *et al.:* Genetic detection and characterization of Lujo virus, a new hemorrhagic fever-associated arenavirus from southern Africa. *PLoS Pathog* 2009;5:e1000455.

Brinton MA: The molecular biology of West Nile Virus: a new invader of the western hemisphere. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:371.

Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T: Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:531.

Feldmann H, Geisbert T, Kawaoka Y (guest editors): Filoviruses: Recent advances and future challenges. *J Infect Dis* 2007;196 (Suppl 2). [Entire issue.]

Griffin DE: Alphaviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Gubler DJ, Kuno G, Markoff L: Flaviviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Japanese encephalitis vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2006;81:331.

Li D: A highly pathogenic new bunyavirus emerged in China. *Emerging Microbes and Infections* 2013;2:e1.

MacNeil A, Nichol ST, Spiropoulou CF: Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res* 2011;162:138.

McMullan LK, Folk SM, Kelly AJ, *et al.:* A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N Engl J Med* 2012;367:834.

Centers for Disease Control and Prevention. Japanese Encephalitis Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 2010;59(RR-1).

Centers for Disease Control and Prevention. Yellow Fever Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 2010;59(RR-7).

Rift Valley fever fact sheet. *World Health Org Wkly Epidemiol* Rec 2008;83:17.

Rothman AL: Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol* 2011;11:532.

Shu PY, Huang JH: Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagnostic Lab Immunol* 2004;11:642.

Süss J: Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine* 2003;21(Suppl 1):S19.

Swei A, Russell BJ, Naccache SN, *et al.:* The genome sequence of Lone Star virus, a highly divergent bunyavirus found in the Amblyomma americanum tick. *PLoS One* 2013;8:

Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2011;86:241.

Walter CT, Barr JN: Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J Gen Virol* 2011;92:2467.

Yellow fever vaccine: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2003;78:349.

Zhao L, Zhai S, Wen H, *et al.:* Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, Shandong Province, China. *Emerging Infectious Diseases* 2012;18:963.

CAPÍTULO

39

Ortomixovirus (virus de la influenza)

Las enfermedades respiratorias son causa de más de la mitad de todas las enfermedades agudas que se presentan cada año en Estados Unidos. Los **Orthomyxoviridae** (virus de la gripe [influenza]) son un factor importante que determina la morbilidad y la mortalidad causadas por las enfermedades respiratorias; los brotes de infección a veces se presentan en epidemias mundiales. La gripe ha causado millones de muertes en todo el mundo. La mutabilidad y la elevada frecuencia de reagrupamiento genético y los cambios antigénicos resultantes en las glucoproteínas de la superficie viral hacen que los virus de la gripe sean un reto formidable en las actividades de control. La gripe de tipo A tiene una gran variabilidad antigénica y produce casi todos los casos de gripe epidémica. La gripe de tipo B puede producir cambios antigénicos y a veces causa epidemias. La gripe de tipo C muestra estabilidad antigénica y sólo produce enfermedad leve en individuos inmunocompetentes.

PROPIEDADES DE LOS ORTOMIXOVIRUS

Se conocen tres tipos inmunitarios de virus de la gripe, designados A, B y C. En los virus de la gripe del grupo de tipo A continuamente ocurren cambios antigénicos y también en menor grado en el grupo de tipo B, en tanto que el de tipo C al parecer tiene estabilidad antigénica. Asimismo, se conocen cepas del virus de la gripe A para aves acuáticas, pollos, patos, cerdos, caballos y focas. Algunas de las cepas aisladas de animales son antigénicamente similares a las cepas que circulan en la población humana.

Las siguientes descripciones se basan en el virus de la gripe de tipo A, el tipo mejor caracterizado (cuadro 39-1).

Estructura y composición

Los viriones de la gripe suelen ser esféricos y tienen un diámetro de 100 nm (80 a 120 nm), aunque pueden manifestar una gran variación en su tamaño (figura 39-1).

Los genomas de RNA monocatenario de polaridad negativa de los virus de la gripe A y B ocurren en ocho segmentos separados; los virus de la gripe C contienen siete segmentos de RNA y carecen de un gen de la neuraminidasa. Se conocen asignaciones de tamaños y de codificación de proteínas para todos los segmentos (cuadro 39-2). La mayor parte de los segmentos codifican una sola proteína. Los primeros 12 a 13 nucleótidos en cada extremo de todo segmento genómico se conservan en la totalidad de los ocho segmentos de RNA; estas secuencias tienen importancia en la transcripción viral.

Los virus de la gripe contienen nueve proteínas estructurales diferentes. La nucleoproteína (NP, *nucleoprotein*) se asocia al RNA viral para formar una estructura de ribonucleoproteína (RNP) de 9 nm de diámetro que asume una configuración helicoidal y forma la nucleocápside viral. Tres proteínas de gran tamaño (PB1, PB2 y PA) se unen al RNP viral e intervienen en la transcripción y replicación del RNA. La proteína de la matriz (M_1) que forma una capa por debajo de la envoltura lipídica del virus es importante en la morfogénesis de la partícula y es un componente principal del virión (alrededor de 40% de la proteína viral).

Una envoltura lipídica derivada de la célula rodea a la partícula viral. Dos glucoproteínas codificadas por el virus, la hemaglutinina (HA, *hemagglutinin*) y neuraminidasa (NA, *neuraminidase*), se insertan en la envoltura y están expuestas como espigas de unos 10 nm de longitud en la superficie de la partícula. Estas dos glucoproteínas de la superficie son antígenos importantes que determinan la variación antigénica de los virus de la gripe y la inmunidad del hospedador. La HA representa alrededor de 25% de la proteína viral y la NA casi 5%. La proteína del canal iónico de M_2 y la del NS_2 también están presentes en la envoltura pero sólo algunas copias por partícula.

Dado el carácter segmentado del genoma, cuando una célula se infecta de manera simultánea con dos virus diferentes en un determinado tipo, mezclas de segmentos del gen progenitor pueden ensamblarse en viriones de la progenie. Este fenómeno, denominado **reagrupamiento genético**, puede producir cambios súbitos en los antígenos de la superficie viral, una propiedad que explica las características epidemiológicas de la gripe y plantea importantes dificultades para el desarrollo de las vacunas.

Los virus de la gripe son relativamente resistentes *in vitro* y pueden almacenarse a una temperatura de 0 a 4 °C durante semanas sin que pierdan su viabilidad. Los disolventes de lípidos, los desnaturalizantes de proteínas, el formaldehído y la radiación destruyen la infecciosidad. Esta última y la hemaglutinación son más resistentes a la inactivación a un pH alcalino que a un pH ácido.

Clasificación y nomenclatura

El género *Influenzavirus A* contiene cepas humanas y animales del virus de la gripe de tipo A; *Influenzavirus B* contiene cepas humanas de tipo B, e *Influenzavirus C* contiene virus de la gripe de tipo C de seres humanos y de cerdos.

Las diferencias antigénicas manifestadas por dos de las proteínas estructurales internas, las proteínas de la nucleocápside

apter 39_Carroll_4R.indd 565 15/04/16

CUADRO 39-1 Propiedades importantes de los ortomixovirus[a]

Virión: esférico, pleomorfo, 80 a 120 nm de diámetro (nucleocápside helicoidal, 9 nm)
Composición: RNA (1%), proteína (73%), lípidos (20%), carbohidrato (6%)
Genoma: RNA monocatenario, segmentado (ocho moléculas), de polaridad negativa, 13.6 kb de tamaño global
Proteínas: nueve proteínas estructurales, una no estructural
Envoltura: contiene hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) virales de proteínas
Replicación: transcripción nuclear; términal 5′ "capping" de RNA celular como cebador; las partículas maduran mediante gemación a partir de la membrana plasmática
Partículas sobresalientes: el reagrupamiento genético es frecuente entre los miembros del mismo género El virus de la gripe produce epidemias mundiales

[a] Descripción del virus de la gripe A, género *Influenzavirus A*.

(NP, *nucleocapsid*) y la matriz (M, *matrix*) se utilizan para clasificar los virus de la gripe en tipos A, B y C. Estas proteínas no poseen reactividad cruzada entre los tres tipos. Las variaciones antigénicas en las glucoproteínas de superficie, HA y NA, se utilizan para subtipificar los virus del tipo A.

El sistema de nomenclatura estándar para las cepas del virus de la gripe comprende la siguiente información: tipo, hospedador de origen, origen geográfico, número de cepas y año de aislamiento. Las descripciones antigénicas de HA y NA se muestran entre paréntesis para el de tipo A. No se indica el hospedador de origen para las cepas humanas, por ejemplo A/Hong Kong/03/68(H3N2), pero se indica para otros, por ejemplo A/cerdos/Iowa/15/30(H1N1).

Hasta el momento, se han aislado 18 subtipos de HA (H1 a H18) y 11 subtipos de NA (N1 a N11), en muchas diferentes combinaciones obtenidas de seres humanos y animales.

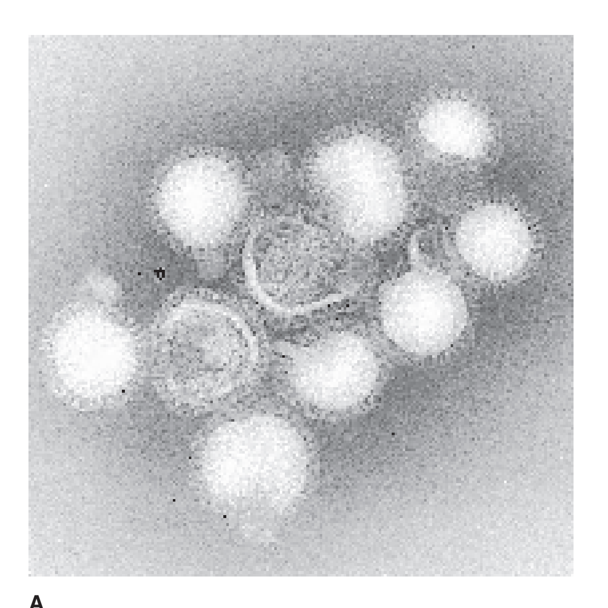
La familia Orthomyxoviridae también contiene el género *Thogotovirus*, pero no se sabe si algunos de sus miembros causan enfermedad en seres humanos.

Estructura y función de la hemaglutinina

La proteína HA del virus de la gripe fija partículas virales a las células susceptibles y es el principal antígeno contra el cual se dirigen los anticuerpos neutralizantes (protectores). La variabilidad de la HA es la causa principal de la evolución continuada de nuevas cepas y epidemias de gripe subsiguientes. La HA deriva su nombre de su capacidad para aglutinar eritrocitos en determinadas circunstancias.

La secuencia primaria de la HA contiene 566 aminoácidos (figura 39-2A). Una secuencia corta de la señal en el extremo aminoterminal inserta el polipéptido al retículo endoplasmático; enseguida la señal se retira. La proteína HA se desdobla en dos subunidades, HA1 y HA2, que permanecen fuertemente unidas por puentes de disulfuro. Un tramo hidrófobo cerca del carboxilo terminal de HA2 ancla la molécula de HA en la membrana, con una cola corta hidrófila que se extiende hacia el citoplasma. Los residuos de oligosacáridos se agregan en varios sitios.

La estructura tridimensional de la proteína HA se ha podido conocer gracias a la cristalografía de rayos X. La



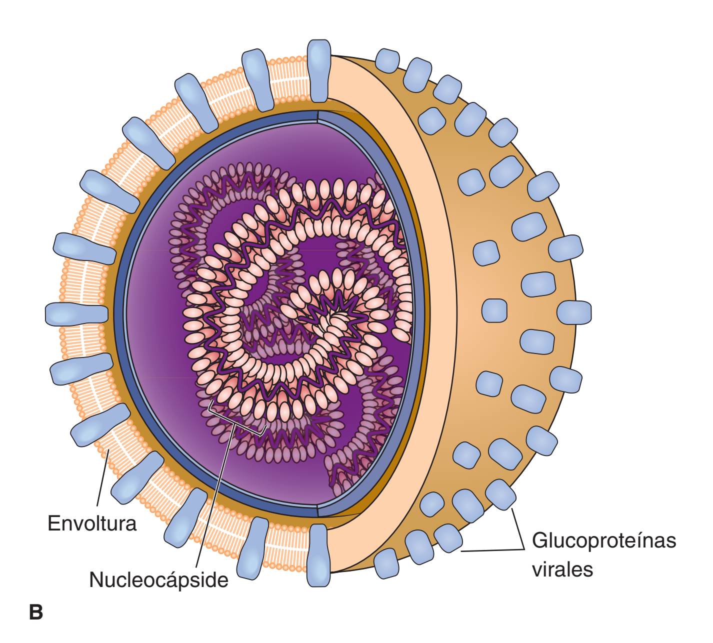


FIGURA 39-1 Virus de la gripe. **A:** microfotografía electrónica del virus de la gripe A/Hong Kong/1/68(H3N2). Obsérvense las formas pleomorfas y las proyecciones de glucoproteína que cubren las superficies de la partícula (315 000×). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.) **B:** vista esquemática del virus de la gripe. Las partículas del virus tienen genomas segmentados que constan de siete a ocho moléculas de RNA diferentes, cada una cubierta por proteínas de la cápside que forman nucleocápsides helicoidales. Las glucoproteínas virales (hemaglutinina y neuraminidasa) se proyectan como espiga a través de la envoltura lipídica. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley and Klein's Microbiology,* 7a. ed. McGraw Hill, 2008. The McGraw-Hill Companies, Inc.)

CUADRO 39-2 Asignaciones de codificación de los segmentos de RNA del virus de la gripe de tipo A

Segmento del genoma		Polipéptido codificado			
Número[a]	Tamaño (número de nucleótidos)	Designación	Peso molecular previsto[b]	Número aproximado de moléculas por virión	Función
1	2 341	PB2	85 700	30 a 60	Componentes de transcriptasa de RNA
2	2 341	PB1	86 500		
3	2 233	PA	84 200		
4	1 778	HA	61 500	500	Hemaglutinina; trímero; glucoproteína de la envoltura; media la inserción del virus en la célula; activado por desdoblamiento; actividad de fusión a un pH ácido
5	1 565	NP	56 100	1 000	Relacionado con proteínas de RNA y de polimerasa; estructura helicoidal; nucleocápside
6	1 413	NA	50 000	100	Neuraminidasa; tetrámero; glucoproteínas de envoltura; enzimas
7	1 027	M_1	27 800	3 000	Proteína de la matriz; componente principal del virión; reviste el interior de la envoltura; interviene en el ensamble; interacciona con RNP y NS_2 del virus
		M_2	11 000	20 a 60	Proteína integral de la membrana; canal iónico; esencial para la pérdida de la envoltura del virus; de mRNA empalmado
8	890	NS_1	26 800	0	No estructural; gran abundancia; inhibe el empalme pre-mRNA; reduce la respuesta de interferón
		NS_2	14 200	130 a 200	Componente menor de viriones; exportación nuclear de RNP virales; de mRNA empalmado

[a] Los segmentos de RNA están numerados en orden de tamaño decreciente.

[b] Los pesos moleculares de las dos glucoproteínas, HA y NA, aparecen más grandes (alrededor de 76 000 y 56 000, respectivamente) debido al carbohidrato añadido.

HA, hemaglutinina; M_1, proteína de matriz; M_2, proteína de la membrana integral; NA, neuraminidasa; NP, nucleoproteína; NS_1 y NS_2, son proteínas no estructurales; PV2, PB1 y PA son proteínas de polimerasa; RNP, ribonucleoproteína.

Adaptado con autorización de Lamb RA, Krug RM: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. En: Fields BN *et al.* [editors]. *Fields Virology,* 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.

molécula de HA se pliega en una estructura compleja (figura 39-2B). Cada dímero de HA1 y HA2 ligado forma un tronco alargado recubierto por un glóbulo de gran tamaño. La base del tronco lo ancla en la membrana. Cinco puntos antigénicos en la molécula de HA muestran mutaciones considerables. Estos puntos ocurren en regiones expuestas de la superficie de la estructura y al parecer no son esenciales para la estabilidad de la molécula e intervienen en la neutralización viral. Otras regiones de la molécula de HA están conservadas en todas las cepas, lo cual probablemente se debe a que son necesarias para que la molécula retenga su estructura y función.

La espiga de HA en la partícula viral es un trímero, que consta de tres dímeros de HA1 y HA2 entrelazados (figura 39-2C). La trimerización imparte más estabilidad a la espiga que la que podría lograrse con un monómero. El lugar de unión del receptor celular (lugar de adhesión del virus) es un saco ubicado en la parte superior de cada glóbulo grande. El saco es inaccesible al anticuerpo.

El desdoblamiento que separa a las subunidades HA1 y HA2 es necesario para que la partícula viral sea infecciosa y es mediada por proteasas celulares. Los virus de la gripe por lo general se mantienen circunscritos a las vías respiratorias debido a que las enzimas de proteasa que desdoblan a la molécula HA son frecuentes sólo en esos lugares. Se han observado ejemplos de virus más virulentos que se han adaptado a utilizar una enzima más ubicua, como la plasmina, para desdoblar HA y favorecer la infección generalizada de las células. El extremo aminoterminal de la subunidad HA2, generado por el fenómeno de desdoblamiento, es necesario para que la envoltura viral se fusione con la membrana celular, un paso esencial en el proceso de la infección viral. El pH bajo desencadena un cambio en la configuración que inicia la actividad de fusión.

Estructura y función de la neuraminidasa

La antigenicidad de la NA, la otra glucoproteína presente en la superficie de las partículas del virus de la gripe, también es importante para determinar el subtipo de cepas del virus de la influenza.

La espiga en la partícula viral es un tetrámero, que consta de cuatro monómeros idénticos (figura 39-2D). Un tronco delgado está coronado con una cabeza de forma de caja. Hay un

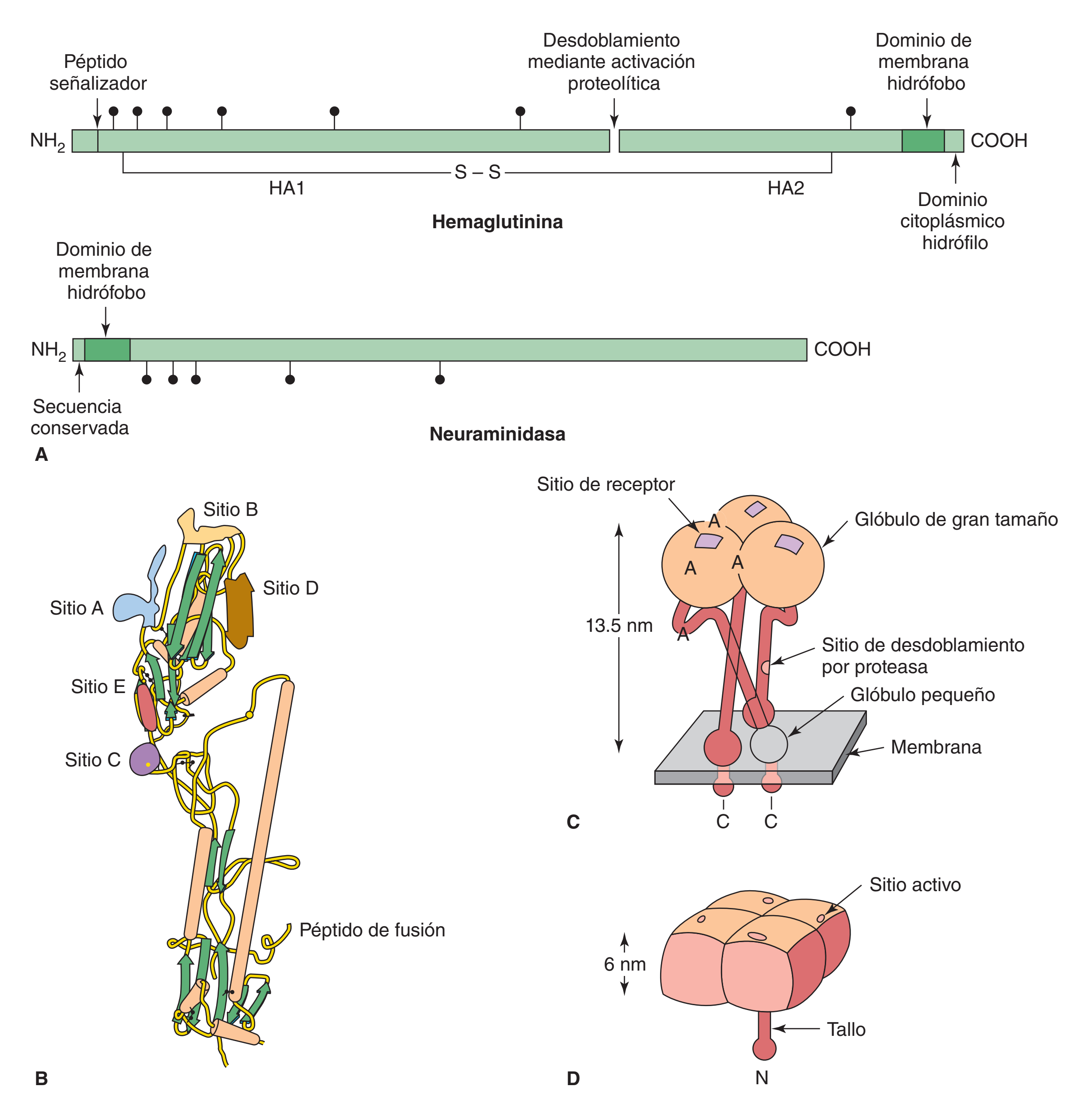


FIGURA 39-2 Glucoproteínas de superficie hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) del virus de la gripe. **A:** estructuras primarias de los polipéptidos de HA y NA. El desdoblamiento de HA en HA1 y HA2 es necesario para que el virus sea infeccioso. Los tipos HA1 y HA2 se mantienen unidos mediante un enlace de disulfuro (S-S). No ocurre desdoblamiento postraduccional con la NA. Se muestran los puntos de inserción del carbohidrato (•). Los aminoácidos hidrófobos que anclan las proteínas en la membrana viral están situados cerca del carboxilo terminal de la HA y el amino terminal de la NA. **B:** plegamiento de los polipéptidos de HA1 y HA2 en un monómero de hemaglutinina. Cinco lugares antigénicos importantes (lugares A-E) que experimentan cambios que se muestran como *zonas sombreadas*. El amino terminal de HA2 proporciona actividad para la fusión (péptido de fusión). La partícula de fusión está sepultada en la molécula hasta que es expuesta por un cambio en la configuración desencadenado por un pH bajo. **C:** estructura del trímero de HA como se observa en una partícula viral o la superficie de las células infectadas. Se muestran algunas de las zonas que intervienen en la variación antigénica (A). Los residuos de carboxilo terminal (C) se proyectan a través de la membrana. **D:** estructura del tetrámero de NA. Cada molécula de NA tiene un lugar activo en su superficie superior. La región amino terminal (N) de los polipéptidos ancla el complejo en la membrana. (Dibujada de nuevo con autorización de [A, B] Murphy BR, Webster RG: Influenza viruses, página 1179, y [C, D] Kingsbury DW: Orthomyxo- and paramyxoviruses and their replication, páginas 1163 y 1172. En: Fields BN *et al*. [editors]. *Virology,* Raven Press, 1985.)

punto catalítico para la NA en la parte superior de cada cabeza, de manera que cada espiga de NA contiene cuatro lugares activos.

La NA funciona al final del ciclo de replicación viral. Es una enzima sialidasa que retira ácido siálico de los glucoconjugados; éste facilita la liberación de partículas virales de la superficie de células infectadas durante el proceso de gemación y ayuda a evitar la autoagregación de viriones al retirar los residuos de ácido siálico de las glucoproteínas virales. Es posible que la NA ayude al virus a abrirse camino a través de la capa de mucina en las vías respiratorias para llegar a los blancos celulares epiteliales.

Variación antigénica menor y variación antigénica mayor

Los virus de la gripe son notables por los cambios antigénicos frecuentes que ocurren en la HA y la NA. Las variantes antigénicas del virus de la gripe tienen una ventaja selectiva sobre el virus progenitor en la presencia de anticuerpo dirigido contra la cepa original. Este fenómeno es la causa de las características epidemiológicas singulares de la gripe. Otros microorganismos que afectan al sistema respiratorio no manifiestan una variación antigénica importante.

Los dos antígenos de superficie de la gripe experimentan variación antigénica independiente entre sí. Los cambios antigénicos menores se denominan **variación antigénica menor**; los cambios antigénicos mayores en la HA o la NA, denominados **variación antigénica mayor**, dan por resultado la aparición de un nuevo subtipo (figura 39-3). La variación antigénica mayor tiene más probabilidad de producir una epidemia.

La variación antigénica menor se debe a la acumulación de mutaciones puntuales en el gen que dan por resultado cambios de aminoácidos en la proteína. Los cambios de secuencia pueden modificar los lugares antigénicos en la molécula de tal manera que un virión puede evadir el reconocimiento por el sistema inmunitario del hospedador. El sistema inmunitario no causa la variación antigénica, sino más bien funciona como una fuerza de selección que permite la expansión de nuevas variantes antigénicas. Una variante debe sufrir dos o más mutaciones antes que surja una nueva cepa de importancia epidemiológica.

La variación antigénica mayor refleja cambios drásticos en la secuencia de una proteína de superficie del virus, causada por reagrupamiento genético entre las partículas de la gripe de seres humanos, cerdos y aves. Los virus de gripe B y C no presentan dicho tipo de variación mayor, porque existen pocos virus afines en animales.

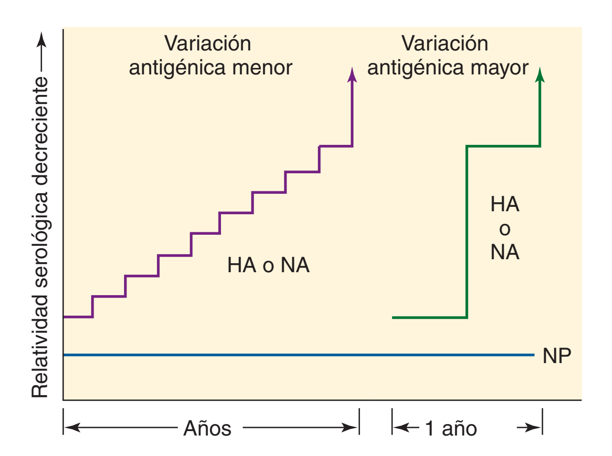


FIGURA 39-3 La variación antigénica menor y la variación antigénica mayor participan en los cambios antigénicos de las dos glucoproteínas de superficie (HA y NA) del virus de la gripe. La variación antigénica menor es un cambio gradual de la antigenicidad debido a las mutaciones de punto que afectan los sitios antigénicos principales de la glucoproteína. La variación antigénica mayor es un cambio brusco debido al reagrupamiento genético con una cepa no relacionada. Los cambios en la HA y la NA ocurren de manera independiente. Las proteínas internas del virus, como la nucleoproteína (NP), no experimentan cambios antigénicos.

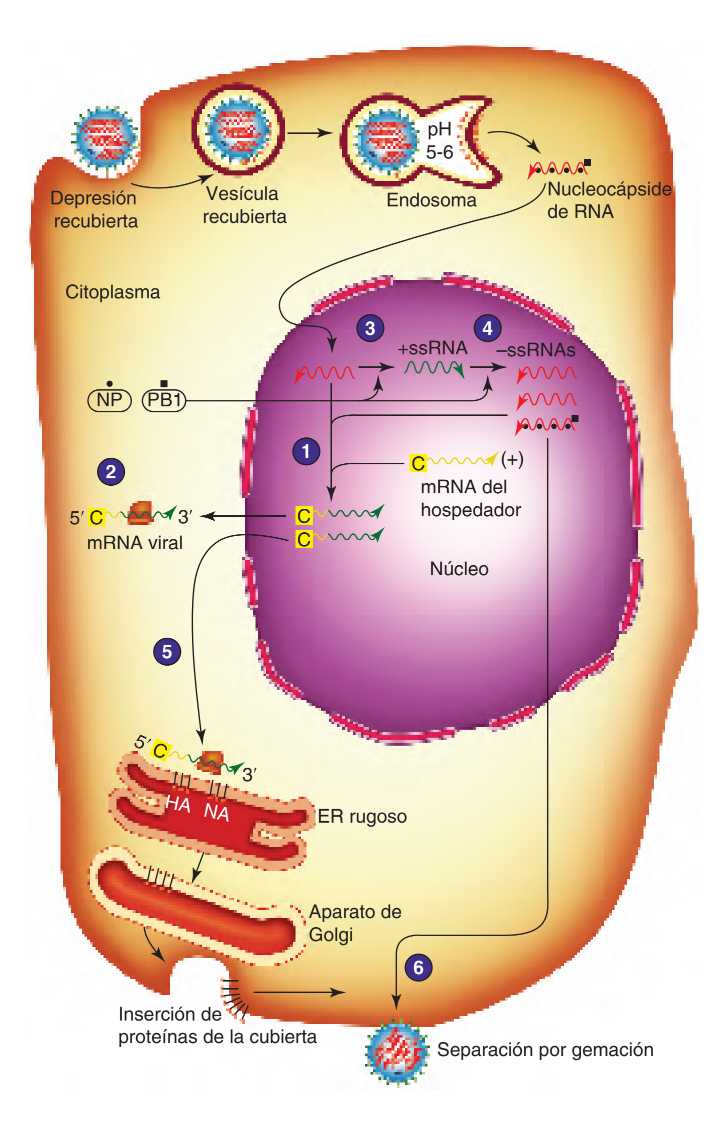


FIGURA 39-4 Diagrama del ciclo vital del virus de la gripe. Después de la endocitosis mediada por receptor, los complejos de ribonucleoproteína viral se liberan hacia el citoplasma y se transportan al núcleo, donde ocurre la replicación y la transcripción. 1) Los RNA mensajeros son exportados al citoplasma para su traducción. 2) Las proteínas virales iniciales necesarias para la replicación y la transcripción que incluyen la nucleoproteína (NP) y una proteína de polimerasa (PB1) son devueltas al núcleo. La actividad de la RNA polimerasa, que posee la proteína PB1, sintetiza RNA monocatenario de polaridad positiva (ssRNA) a partir de moléculas de RNA monocatenario de polaridad negativa, genómico (-ssRNA). 3) Estas plantillas de +ssRNA son copiadas por medio de la actividad de RNA polimerasa de la proteína PB1. 4) Algunos de estos segmentos genómicos nuevos actúan como plantillas para la síntesis de más mRNA viral. En etapas ulteriores de la infección algunos terminan por ser genomas hijos. Las moléculas de mRNA viral transcritas a partir de algunos segmentos genómicos codifican proteínas estructurales como la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Los mensajes generados son traducidos por los ribosomas presentes en el retículo endoplásmico y son transmitidos a la membrana celular. 5) Los segmentos del genoma viral son empacados en la forma de viriones hijos que se independizan al brotar en la célula hospedadora. 6) ER, retículo endoplásmico. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (eds). *Prescott Harley, & Klein's Microbiology*. Nueva York: McGraw-Hill; 2008, p. 457. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

Replicación del virus de la gripe

En la figura 39-4 se resume el ciclo de replicación del virus de la gripe. El ciclo de replicación viral procede con rapidez. Hay una inactivación de la síntesis de la proteína de la célula del hospedador unas 3 h después de la infección, lo que permite la traducción selectiva de los mRNA virales. Se producen nuevos virus descendientes al cabo de 8 a 10 horas.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la envoltura viral

El virus se adhiere al ácido siálico de la superficie celular a través del receptor ubicado en la parte superior del glóbulo grande de la HA. Las partículas del virus luego son interiorizadas en endosomas mediante un proceso denominado endocitosis mediada por receptor. El siguiente paso consiste en la fusión entre la envoltura viral y la membrana celular, que desencadena la pérdida de la envoltura. El pH bajo en el endosoma es necesario para la fusión de la membrana mediada por el virus que libera RNP virales hacia el citosol. El pH ácido produce un cambio de configuración en la estructura de HA que hace que el "péptido de fusión" de HA2 quede en contacto correcto con la membrana. La proteína del canal iónico de M_2 presente en el virión permite la entrada de iones del endosoma hacia la partícula viral, lo que desencadena el cambio de configuración en la HA. Las nucleocápsides virales son liberadas luego hacia el citoplasma de las células.

B. Transcripción y traducción

Los mecanismos de transcripción utilizados por los ortomixovirus son muy diferentes de los de otros virus de RNA por cuanto intervienen de manera más íntima las funciones celulares. La transcripción viral ocurre en el núcleo. Los mRNA se producen a partir de las nucleocápsides virales. La polimerasa codificada por el virus, que consta de un complejo de las tres proteínas P, es la que interviene principalmente en la transcripción. Su acción debe ser inducida por los terminales 5′ rematados y metilados que son depurados de los transcriptos celulares recién sintetizados por la RNA polimerasa II celular. Esto explica por qué la replicación del virus de la gripe es inhibida por la dactinomicina y la amanitina α, que bloquean la transcripción celular, en tanto que otros virus de RNA no son afectados, pues no utilizan transcriptos celulares en la síntesis de RNA viral.

Seis de los segmentos del genoma generan mRNA monocistrónicos que se traducen en el citoplasma en seis proteínas virales. Los otros dos transcriptos experimentan empalme y cada uno genera dos mRNA que son traducidos en diferentes marcos de lectura. En las primeras etapas después de la infección, las proteínas NS_1 y NP son sintetizadas de preferencia. En etapas subsiguientes, las proteínas estructurales son sintetizadas con elevadas tasas. Las dos glucoproteínas, HA y NA, son modificadas utilizando la vía secretora.

La proteína NS_1 no estructural del virus de la gripe tiene una función postranscripcional en la regulación de la expresión del gen viral y celular. La proteína NS_1 se une a secuencias poli(A), inhibe el empalme previo al mRNA e inhibe la exportación nuclear de los mRNA empalmados, con lo que asegura una reserva de moléculas celulares donadoras que proporcionan los cebadores incorporados en la cápside que son necesarios para la síntesis de mRNA viral. La proteína NS_2 interacciona con la proteína M_1 e interviene en la exportación nuclear de los RNP virales.

C. Replicación del RNA viral

La replicación del genoma viral se logra por las mismas proteínas de polimerasa codificadas por el virus que intervienen en la transcripción. Los mecanismos que regulan las funciones alternativas de transcripción y replicación de las mismas proteínas están relacionados con la abundancia de una o más de las proteínas de la nucleocápside viral.

Al igual que con todos los demás virus de tiras negativas, las plantillas para la síntesis de RNA viral se mantienen recubiertas con nucleoproteínas. Los únicos RNA completamente libres son los mRNA. El primer paso en la replicación del genoma es la producción de copias de cada segmento de tira positiva. Estas copias antigenoma difieren de las mRNA en las dos terminales: los extremos 5′ no están rematados y los extremos 3′ no están truncados ni poliadenilados. Estas copias hacen las veces de plantillas para la síntesis de copias facsímiles de RNA genómicos.

Puesto que hay secuencias comunes en los dos extremos de todos los segmentos de RNA viral, pueden reconocerse eficientemente por el aparato de síntesis de RNA. El entrelazado de los segmentos de genoma derivados de diferentes progenitores en las células coinfectadas posiblemente es la causa de la gran frecuencia de reagrupamiento genético característico de los virus de la gripe dentro de un género. Se han observado frecuencias de reagrupamiento de hasta 40 por ciento.

D. Maduración

El virus madura por gemación desde la superficie de la célula. Los componentes virales individuales llegan al lugar de gemación por diferentes caminos. Las nucleocápsides se ensamblan en el núcleo y se desplazan afuera hacia la superficie celular. Las glucoproteínas, HA y NA, se sintetizan en el retículo endoplásmico; son modificadas y ensambladas en trímeros y tetrámeros respectivamente; se insertan en la membrana plasmática. La proteína M_1 hace las veces de un puente que vincula la nucleocápside a los extremos citoplásmicos de las glucoproteínas. Los viriones descendientes salen de la célula por gemación. Durante esta serie de fenómenos, la HA es desdoblada en HA1 y HA2 si la célula hospedadora posee la enzima proteolítica apropiada. La NA retira los ácidos siálicos terminales de las glucoproteínas de la superficie celular y viral, lo que facilita la liberación de partículas virales de la célula y evita su agregación.

Muchas de las partículas no son infecciosas. Las partículas a veces no logran incorporar en la cápside el complemento completo de segmentos de genoma; a menudo uno de los segmentos grandes de RNA falta. Estas partículas no infecciosas pueden causar hemaglutinación y pueden interferir en la replicación del virus intacto.

Los sistemas de genética inversa que permiten la generación de virus de la gripe infecciosos de cDNA clonados de segmentos de RNA viral están disponibles y permiten la realización de estudios de mutagénesis y funcionales.

CUADRO 39-3 Comparación de virus que infectan el aparato respiratorio humano

Virus	Enfermedad	Número de serotipos	Inmunidad de por vida contra la enfermedad	Vacuna disponible	Latencia viral
Virus de RNA					
Virus de la gripe A	Gripe	Múltiples	No	+	–
Metaneumovirus	Laringotraqueítis, bronquiolitis	Varios	No	–	–
Virus de la parainfluenza	Laringotraqueítis	Múltiples	No	–	–
Virus sincicial respiratorio	Bronquiolitis, neumonía	Dos	No	–	–
Virus de la rubéola	Rubéola	Uno	Sí	+	–
Virus del sarampión	Sarampión	Uno	Sí	+	–
Virus de la parotiditis	Parotiditis, meningitis	Uno	Sí	+	–
Rinovirus	Resfriado común	Múltiples	No	–	–
Coronavirus	Resfriado común	Múltiples	No	–	–
Virus coxsackie	Herpangina, pleurodinia	Múltiples	No	–	–
Virus de DNA					
Virus del herpes simple de tipo 1	Gingivoestomatitis	Uno	No	–	+
Virus de Epstein-Barr	Mononucleosis infecciosa	Uno	Sí	–	+
Virus de varicela-zóster	Varicela, herpes	Uno	Sí[a]	+	+
Adenovirus	Faringitis, neumonía	Múltiples	No	–	+

[a] Inmunidad de por vida contra las reinfecciones por varicela pero no a la reactivación de herpes zóster.

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA GRIPE EN SERES HUMANOS

En el cuadro 39-3 se muestra una comparación del virus de la gripe A con otros virus que infectan el sistema respiratorio humano. Aquí se analizará el virus de la gripe.

Patogenia y anatomía patológica

El virus de la gripe se disemina entre las personas por las gotitas de secreciones respiratorias presentes en el aire o por el contacto con las manos o superficies contaminadas. Algunas células del epitelio respiratorio se infectan si las partículas virales depositadas evitan su eliminación por el reflejo tusígeno y evaden la neutralización por los anticuerpos IgA específicos preexistentes o la inactivación por inhibidores inespecíficos presentes en las secreciones de la mucosa. Pronto se producen viriones descendientes y se diseminan a las células adyacentes donde se repite el ciclo de replicación. La NA viral reduce la viscosidad de la película de moco en el sistema respiratorio, dejando desnudos los receptores de la superficie celular y favoreciendo la diseminación del líquido que contiene virus a las porciones inferiores del sistema respiratorio. En breve, muchas células de las vías respiratorias son infectadas y tarde o temprano mueren.

El periodo de incubación desde la exposición al virus y el inicio de la enfermedad varían de un día a cuatro días, lo que depende del tamaño de la dosis viral y el estado inmunitario del hospedador. La eliminación del virus comienza el día previo al inicio de los síntomas, alcanza su máximo en un lapso de 24 h, se mantiene elevada durante uno a dos días y luego disminuye los siguientes cinco días. El virus infeccioso muy pocas veces se aísla de la sangre.

El interferón es detectable en las secreciones respiratorias aproximadamente un día después que comienza la eliminación del virus. Los virus de la gripe son sensibles a los efectos antivirales del interferón y se cree que la respuesta de éste contribuye al restablecimiento del hospedador tras la infección. Durante otras una a dos semanas no se pueden detectar anticuerpos específicos y respuestas mediadas por las células.

Las infecciones por gripe causan destrucción celular y descamación de la mucosa superficial del sistema respiratorio pero no modifican la capa basal del epitelio. La recuperación completa de la lesión celular probablemente tarda un mes. La lesión viral del epitelio del sistema respiratorio reduce su resistencia a los invasores bacterianos secundarios, sobre todo estafilococos, estreptococos y *Haemophilus influenzae*.

El edema y las infiltraciones con mononucleares en respuesta a la liberación de citocinas y muerte celular originada por réplica viral, probablemente son las que originan los síntomas locales. La fiebre y los síntomas sistémicos relacionados con la gripe reflejan la acción de las citocinas.

Manifestaciones clínicas

La gripe ataca principalmente a las vías respiratorias superiores. Conlleva un riesgo importante para los adultos de edad avanzada, los pacientes muy pequeños y las personas con trastornos médicos subyacentes como problemas pulmonares, renales o cardiacos, diabetes, cáncer o inmunodeprimidos.

A. Gripe no complicada

Los síntomas de la gripe característica suelen aparecer en forma brusca y comprenden escalofríos, cefalea y tos seca, seguida casi inmediatamente de fiebre alta, mialgias generalizadas, malestar general y anorexia. La fiebre por lo general dura de

tres a cinco días, lo mismo que los síntomas generales. Los síntomas respiratorios suelen persistir durante otros tres a cuatro días. La tos y la debilidad pueden persistir por dos a cuatro semanas después que ceden los síntomas principales. Pueden presentarse infecciones leves o asintomáticas. Estos síntomas pueden desencadenarse por cualquier cepa de virus de la gripe A o B. En cambio, la gripe C pocas veces produce el síndrome de influenza, y más bien es causa de resfriados comunes. La coriza y la tos pueden persistir por varias semanas.

Los síntomas clínicos de la gripe en los niños son similares a los observados en los adultos, aunque los niños pueden tener fiebre más alta y una mayor frecuencia de manifestaciones digestivas como vómito. Pueden presentarse convulsiones febriles. Los virus de la gripe A son una causa importante de laringotraqueobronquitis en los niños de menos de un año de edad, la cual puede ser grave. Por último, puede presentarse otitis media.

Cuando la gripe aparece en forma epidémica, las manifestaciones clínicas son tan uniformes que es posible diagnosticar la enfermedad. Los casos esporádicos no se pueden diagnosticar con base en las manifestaciones clínicas, ya que éstas pueden no distinguirse de las causadas por otros microorganismos patógenos del sistema respiratorio. Sin embargo, estos otros microorganismos pocas veces producen neumonía viral grave, que es una complicación de la infección por el virus de la gripe A.

B. Neumonía

Las complicaciones graves suelen presentarse sólo en los adultos de edad avanzada y pacientes debilitados, sobre todo aquellos con enfermedades crónicas subyacentes. El embarazo al parecer es un factor de riesgo para las complicaciones pulmonares letales en algunas epidemias. La repercusión letal de una epidemia de gripe se refleja en las muertes excesivas a causa de neumonía y enfermedades cardiopulmonares.

La neumonía que complica las infecciones por gripe puede ser viral, bacteriana secundaria o una combinación de las dos. El incremento de la secreción de moco facilita el transporte de los microorganismos hacia la porción inferior del sistema respiratorio. La gripe aumenta la susceptibilidad de los pacientes a las superinfecciones bacterianas. Esto se atribuye a la pérdida de la depuración por los cilios, la disfunción de las células fagocíticas y la generación de un medio de proliferación bacteriana enriquecido por el exudado alveolar. Las bacterias patógenas más frecuentes son *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae* y *H. influenzae.*

La neumonía viral y bacteriana combinada tiene una frecuencia aproximadamente tres veces mayor que la neumonía por gripe primaria. Una explicación molecular de un efecto sinérgico entre los virus y las bacterias puede ser que algunas cepas de *S. aureus* secretan una proteasa capaz de desdoblar la HA de la gripe y de esta manera permitir la producción de cantidades mucho más elevadas de virus infecciosos en los pulmones.

C. Síndrome de Reye

El síndrome de Reye es una encefalopatía aguda de niños y adolescentes, por lo general de entre los dos y 16 años de edad. La tasa de mortalidad es elevada (10 a 40%). Se desconoce la causa de este síndrome, pero es una complicación infrecuente reconocida de la gripe B, la gripe A y de la infección por herpesvirus de varicela-zóster. Existe una posible relación entre el uso de salicilatos y la aparición subsiguiente del síndrome de Reye. La frecuencia del síndrome ha disminuido conforme se ha reducido el empleo de salicilatos en los niños con síntomas similares a la gripe.

Inmunidad

La inmunidad contra la gripe es duradera y específica de subtipos. Los anticuerpos contra HA y NA son importantes en la inmunidad contra la influenza, en tanto que los anticuerpos contra las otras proteínas codificadas por virus no son protectores. La resistencia al inicio de la infección está relacionada con el anticuerpo contra la HA, en tanto que la disminución de la gravedad de la enfermedad y de la capacidad para transmitir el virus a los contactos guarda relación con el anticuerpo dirigido contra la NA.

La protección se correlaciona con los anticuerpos séricos y los anticuerpos IgA presentes en las secreciones nasales. El anticuerpo secretor local probablemente es importante para evitar la infección. Los anticuerpos séricos persisten por muchos meses a años, en tanto que los anticuerpos secretores tienen una duración más breve (por lo general sólo varios meses). El anticuerpo también modifica la evolución de la enfermedad. Una persona con concentraciones bajas del anticuerpo puede infectarse pero experimentará una forma leve de la enfermedad. La inmunidad puede ser parcial, ya que puede ocurrir reinfección con el mismo virus.

Los tres tipos de virus de la gripe no tienen una relación antigénica y por lo tanto no inducen a una protección cruzada. Cuando un tipo de virus experimenta una variación antigénica menor, una persona con anticuerpo preexistente a la cepa original puede sufrir sólo infección leve con la nueva cepa. Las infecciones subsiguientes a las inmunizaciones refuerzan la respuesta de anticuerpo al primer subtipo de gripe experimentado años antes, un fenómeno denominado "pecado antigénico original".

Se considera que la principal función de las respuestas inmunitarias mediadas por células en la gripe es el despeje de una infección corroborada; los linfocitos T citotóxicos producen lisis de las células infectadas. La respuesta de linfocito T citotóxico es de tipo de reacción cruzada (puede producir lisis de células infectadas con cualquier subtipo de virus) y al parecer está dirigido contra las dos proteínas internas (NP, M) y las glucoproteínas de superficie.

Diagnóstico de laboratorio

Las manifestaciones clínicas de las infecciones respiratorias virales se producen por muchos virus diferentes. En consecuencia, el diagnóstico de la gripe se basa en la identificación de los antígenos virales o del ácido nucleico viral presente en las muestras, el aislamiento del virus o la demostración de una respuesta inmunitaria específica por el paciente.

Los lavados nasales, los borborigmos y los frotis de exudado faríngeo son las mejores muestras para los análisis diagnósticos y se deben obtener en los primeros tres días después del inicio de los síntomas.

A. Reacción en cadena de la polimerasa

Para el diagnóstico de la gripe se prefieren las pruebas rápidas basadas en la detección de RNA de la gripe en muestras clínicas utilizando la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse transcription polymerase chain reaction*). La RT-PCR es rápida (<1 día), sensible y específica. Se han creado tecnologías moleculares múltiples que permiten la detección rápida de diversos patógenos en una sola prueba.

B. Aislamiento e identificación del virus

La muestra que se analizará para el aislamiento del virus se debe mantener a una temperatura de 4 °C hasta la inoculación en el cultivo celular, ya que el congelamiento y el deshielo reducen la capacidad para aislar el virus. Sin embargo, si el tiempo de almacenamiento supera los cinco días, la muestra debe congelarse a una temperatura de −70 °C.

Los procedimientos de cultivo viral tardan tres a 10 días. Por lo regular, los huevos embrionados y las células renales de simio primario han sido los métodos de aislamiento de elección para los virus de la gripe, aunque se pueden utilizar algunos linajes celulares continuos. Los cultivos de células inoculadas se incuban en ausencia de suero, que puede contener factores inhibidores virales inespecíficos, y en presencia de tripsina, que desdobla y activa la HA de manera que el virus en replicación se diseminará por todo el cultivo.

Los cultivos de células pueden valorarse para determinar la presencia del virus mediante hemadsorción tres a cinco días después de la inoculación, o el líquido del cultivo puede analizarse para detectar el virus después de cinco a siete días mediante hemaglutinación o inmunofluorescencia. Si los resultados son negativos, se hace un pase hacia los cultivos en fresco. Este pase puede ser necesario porque las cepas virales primarias a menudo son difíciles de cultivar y proliferan con lentitud.

Las cepas virales pueden identificarse mediante inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*), un procedimiento que permite la determinación rápida del tipo y el subtipo de virus de la gripe. Para realizar esto, se deben utilizar sueros de referencia a las cepas que predominan en la actualidad. La hemaglutinación por la nueva cepa será inhibida por el antisuero al subtipo homólogo.

Para un diagnóstico rápido, los cultivos de células obtenidos mediante el método de centrifugación y cultivo se pueden inocular y teñir uno a cuatro días después con anticuerpos monoclonales contra los microorganismos respiratorios. Los cultivos virales rápidos también se pueden valorar mediante RT-PCR para identificar un microorganismo cultivado.

Es posible identificar el antígeno viral directamente en células exfoliadas en aspirados nasales utilizando anticuerpos fluorescentes. Esta prueba es rápida (tarda sólo algunas horas) pero no es tan sensible como PCR o el aislamiento del virus, no proporciona detalles completos sobre la cepa viral y no genera una cepa que se pueda caracterizar. Se comercializan pruebas rápidas para la detección de antígeno de la gripe que tardan menos de 15 min. Sin embargo, la sensibilidad y la especificidad de dichas pruebas son variables; el hecho de obtener un resultado negativo no descarta la existencia de infección por influenza.

C. Análisis serológico

Los anticuerpos contra varias proteínas virales (HA, NA, NP y matriz) se producen durante la infección por el virus de la gripe. La respuesta inmunitaria contra la glucoproteína de HA se relaciona con la resistencia a la infección.

Las pruebas serodiagnósticas sistemáticas utilizadas están basadas en la HI y enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA). Se necesitan sueros pares de fase aguda y de convalecencia, pues las personas sanas por lo general tienen anticuerpos contra la gripe. Debe detectarse un incremento de cuatro veces o más en las concentraciones para diagnosticar una infección por gripe. Los sueros humanos a menudo contienen inhibidores de mucoproteína inespecíficos que deben destruirse antes del análisis mediante HI.

La prueba de HI revela la cepa del virus que produce la infección sólo si se dispone del antígeno correcto. Las pruebas de neutralización son las más específicas y las que mejor pronostican la susceptibilidad a la infección pero tienen menor rendimiento y se tardan más tiempo que las demás pruebas. La prueba ELISA es más sensible que los otros análisis.

Pueden presentarse complicaciones al tratar de identificar la cepa del virus de la gripe infectante mediante la respuesta de anticuerpo del paciente pues a menudo ocurren respuestas anamnésicas.

Epidemiología

Los virus de la gripe se encuentran en todo el mundo y causan brotes epidémicos anuales de intensidad variable. Se calcula que las epidemias anuales de gripe estacional producen tres a cinco millones de casos de enfermedad grave y 250 000 a 500 000 fallecimientos en todo el mundo. La repercusión económica de los brotes de gripe A es importante a causa de la morbilidad inherente a las infecciones. Se han calculado costos económicos de 10 a 60 millones por millón de población en los países desarrollados, lo que depende de la magnitud de la epidemia.

La configuración epidemiológica entre los tres tipos de gripe varía mucho. La gripe C es menos significativa; causa enfermedad respiratoria leve y esporádica pero no gripe epidémica. La gripe B a veces produce epidemia, pero la gripe de tipo A puede propagarse por continentes y en todo el mundo en epidemias masivas llamadas pandemias.

La incidencia de la gripe alcanza su máximo durante el invierno. En Estados Unidos, las epidemias de gripe por lo general se presentan desde enero hasta abril (y de mayo a agosto en el hemisferio del sur). Debe existir una cadena interpersonal continua de transmisión para que se mantenga el microorganismo entre las epidemias. Se puede detectar alguna actividad viral en grandes centros de población durante cada año, lo que indica que el virus se mantiene endémico en la población y produce algunas infecciones asintomáticas o leves.

A. Cambio antigénico

Los brotes periódicos aparecen a causa de los cambios antigénicos en una o dos glucoproteínas de la superficie del virus. Cuando el número de personas susceptibles en una población alcanza una magnitud suficiente, la nueva cepa del virus produce una epidemia. El cambio puede ser gradual (de ahí

el término "variación antigénica menor"), debido a las mutaciones puntuales reflejadas en alteraciones en puntos antigénicos importantes en la glucoproteína (figura 39-3), o drástico y brusco (de ahí el término "variación antigénica mayor"), debido al reagrupamiento genético durante la infección concomitante por una cepa no relacionada.

Los tres tipos de virus de la gripe muestran variación antigénica menor. Sin embargo, sólo la gripe A experimenta una variación antigénica mayor, probablemente porque los virus de tipos B y C están restringidos al ser humano, en tanto que los virus de la gripe A relacionados se encuentran en otros mamíferos y en aves. Estas cepas de animales contribuyen a la variación antigénica menor por el reagrupamiento genético de los genes de glucoproteína. Se ha aislado virus de la gripe A en muchas aves acuáticas, sobre todo patos; en aves domésticas, como pavos, pollos, gansos y patos; en cerdos y caballos, e incluso en focas y ballenas. Los estudios serológicos señalan una elevada prevalencia de infección por virus de gripe en gatos domésticos.

Los brotes epidémicos de gripe ocurren en andanadas, aunque no hay una periodicidad regular en la presentación de las epidemias. La experiencia en un determinado año reflejará la interacción entre la magnitud de la variación antigénica menor del virus predominante y la inmunidad que se desvanece en la población. El periodo entre los brotes epidémicos de gripe A tiende a ser de dos a tres años; el periodo interepidémico para el tipo B es más prolongado (tres a seis años). Cada 10 a 40 años, cuando aparece un nuevo subtipo de gripe A, sobreviene una pandemia. Los estudios seroepidemiológicos sugieren la causa de las epidemias de 1890 (H2N8) y 1900 (H3N8) con confirmación virológica cierta de las epidemias de 1918 (H1N1), 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2). El subtipo H1N1 surgió de nuevo en 1977, aunque no se materializó en la forma de epidemia.

A comienzos de 2009 apareció un nuevo virus H1N1 de origen porcino y a mitad de ese año había alcanzado propagación a nivel pandémico. Era un reagrupamiento cuádruple que contenía genes de virus de cerdos norteamericanos y euroasiáticos, así como virus de la gripe aviar y humana. El virus se transmitió con fácilidad entre seres humanos y se propagó en forma global, lo que ocasionó más de 18 000 muertes. La gravedad de la enfermedad fue similar a la de la gripe estacional. El virus de la pandemia designado como A(H1N1)pdm09, se transformó en el virus de gripe estacional y ha continuado circulando con otros virus de características similares.

Es necesaria la vigilancia de los brotes epidémicos de gripe para identificar la aparición inicial de nuevas cepas, con el propósito de preparar vacunas contra ellas antes que ocurra una epidemia. Esta vigilancia puede extenderse hacia poblaciones animales, sobre todo aves, cerdos y caballos. El aislamiento de un virus con una hemaglutinina alterada a finales de la primavera durante una miniepidemia señala una posible epidemia al siguiente invierno. Se ha observado que este signo premonitor, denominado "onda precursora", antecede a las epidemias de la gripe A y B.

B. Gripe aviar

Los análisis de secuencia de los virus de la gripe A aislados de muchos hospedadores en diferentes regiones del mundo

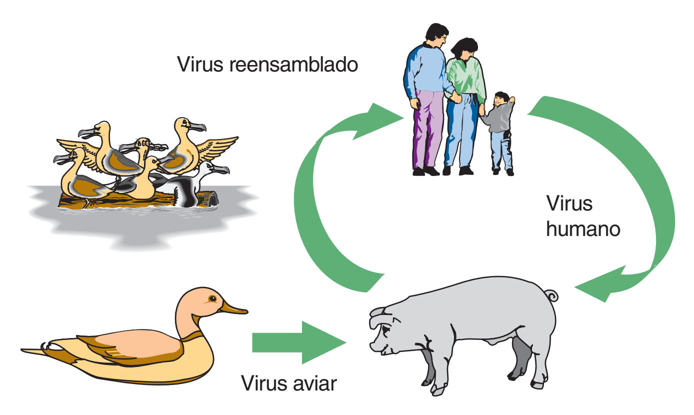


FIGURA 39-5 El cerdo hace las veces de un hospedador intermedio para la generación de los virus de la gripe humanos-aviares reensamblados con potencial pandémico. (Reproducida con autorización de Claas ECJ, Osterhaus ADME: New clues to the emergence of flu pandemics. *Nat Med* 1998;4:1122. Copyright © 1998.)

respaldan la teoría de que todos los virus de la gripe en mamíferos se derivan del reservorio de gripe aviar. De los 18 subtipos de HA que se detectan en aves, sólo unos cuantos han sido transferidos a mamíferos (H1, H2, H3, H5, H7 y H9 en seres humanos; H1, H2 y H3 en cerdos; H3 y H7 en caballos). La misma configuración es aplicable a la NA; se conocen once subtipos de NA en aves, sólo dos de los cuales se hallan en seres humanos (N1, N2).

La gripe aviar fluctúa desde las infecciones no evidentes hasta las infecciones muy letales en pollos y pavos. La mayor parte de las infecciones por gripe en los patos son avirulentas. Los virus de la gripe de los patos se multiplican en células que revisten el intestino y se eliminan en elevadas concentraciones en la materia fecal hacia el agua, donde se mantienen viables por días o semanas, sobre todo a temperaturas bajas. Es posible que la gripe aviar sea una infección transmitida en el agua, desplazándose de aves silvestres a domésticas y cerdos.

Hasta el momento todas las cepas de pandemias humanas se han reagrupado entre virus de la gripe aviar y humana. Las pruebas respaldan el modelo de que los cerdos hacen las veces de conductos mezcladores para los reagrupamientos pues sus células contienen receptores reconocidos por virus humanos y aviares (figura 39-5). La cepa pandémica de 2009 fue un nuevo reagrupamiento que contenía genes virales de origen porcino, así como de virus de la gripe aviar y humana. Los niños de edad escolar son los vectores predominantes de la transmisión de la gripe. El hacinamiento en las escuelas favorece la transmisión de aerosoles del virus y los niños llevan el virus a su domicilio y lo transmiten a la familia.

En 1997 se presentó en Hong Kong la primera infección documentada de seres humanos por el virus de la gripe A aviar (H5N1). La fuente eran los pollos domésticos. Hacia 2006, la presencia geográfica de este virus de la gripe aviar H5N1 altamente patógena, tanto en aves silvestres como domésticas, se había expandido a países de Asia, África, Europa y el Medio Oriente. Los brotes epidémicos fueron los más extensos y los más graves registrados. De casi 425 casos humanos confirmados mediante análisis de laboratorio, para mayo de 2009 más de la mitad habían sido mortales. Hasta el momento, las

cepas de casos humanos han contenido todos los segmentos de genes de RNA de virus aviares, lo que indica que, en estas infecciones, el virus aviar había saltado directamente de las aves al ser humano. Todas las pruebas hasta el momento indican que el contacto estrecho con las aves enfermas ha sido la fuente de infección por H5N1 humana. El problema es que, si se dan suficientes oportunidades, el virus de la gripe aviar H5N1 altamente patógeno adquirirá la capacidad para propagarse con eficiencia y mantenerse en el ser humano, sea mediante reagrupamiento o por mutación adaptativa. Esto produciría una pandemia devastadora de gripe. Otras cepas de gripe aviar se han identificado en infecciones de seres humanos después de exposición cercana con aves, incluidos los virus H7N9 H9N2.

C. Reconstrucción del virus de la gripe de 1918

Las técnicas de PCR han generado fragmentos del virus de la gripe de muestras de tejido de pulmón almacenados de víctimas de la epidemia de la gripe española de 1918. Se han determinado las secuencias de codificación completas de los ocho segmentos de RNA viral y las secuencias documentan que fue un virus H1N1 de la gripe A. Al parecer, el virus de 1918 no fue un reagrupamiento, sino que se derivó completamente de una fuente aviar que se adaptó al ser humano. Utilizando genética inversa, se construyó un virus infeccioso que contenía todos los segmentos génicos del virus de la pandemia de 1918. En contraste con los virus ordinarios de la gripe, el virus de 1918 era muy patógeno, incluso podía matar rápidamente a ratones. Los genes de HA y polimerasas de 1918 al parecer son la causa de la gran virulencia.

Profilaxia y farmacología

El clorhidrato de amantadina y un análogo, la rimantadina, son inhibidores del canal iónico de M_2 que se utilizan en general en el tratamiento y la prevención de la gripe de tipo A. Los inhibidores de NA zanamivir y oseltamivir (aprobado en 1999) y el peramivir (aprobado en 2014) son útiles para el tratamiento de la gripe tipo A y B. Los dos fármacos mencionados, para obtener eficacia máxima, deben administrarse en el comienzo mismo de la enfermedad. Los virus resistentes surgen con mayor frecuencia durante la administración de inhibidores de M_2 que con los inhibidores de NA, y con mayor frecuencia en niños que en adultos. La resistencia al oseltamivir se ha vinculado con la mutación H275Y en el gen de NA. Durante 2013 y 2014 todos los virus de la gripe circulantes eran resistentes a los inhibidores de M_2, pero muchos eran sensibles a los inhibidores de NA. Según la susceptibilidad de las cepas circulantes predominantes, puede ser útil la subtipificación para seleccionar el tratamiento óptimo.

Profilaxia y control mediante vacunas

Las vacunas de virus inactivados constituyen el medio principal para evitar la gripe en Estados Unidos. Sin embargo, determinadas características de los virus de la gripe dificultan en particular la prevención y el control de la enfermedad mediante inmunización. Las vacunas disponibles continuamente se vuelven obsoletas a medida que los virus experimentan variación antigénica menor y variación antigénica mayor. Los programas de vigilancia por los organismos gubernamentales y la Organización Mundial de la Salud (OMS) constantemente vigilan subtipos de gripe que circulan alrededor del mundo para detectar con prontitud la aparición y la propagación de las nuevas cepas.

Un progreso importante sería la capacidad de diseñar una vacuna que estimulara la producción de una respuesta de anticuerpos ampliamente neutralizantes, eficaces contra muchos subtipos de gripe.

Hay otros problemas que merecen mención. Aunque la protección puede alcanzar 70 a 100% en adultos sanos, la frecuencia de protección es más baja (30 a 60%) en los adultos de edad avanzada y en los niños pequeños. Las vacunas virales inactivadas por lo general no generan respuestas satisfactorias de IgA local o respuestas inmunitarias mediadas por células. La respuesta inmunitaria es influida por el hecho de que la persona está "sensibilizada" al haber tenido una experiencia antigénica previa con un virus de la gripe A del mismo subtipo.

A. Preparación de vacunas virales inactivadas

Las vacunas de virus de la gripe A y B inactivadas están autorizadas para uso parenteral en el ser humano. Los organismos federales y la OMS cada año hacen recomendaciones sobre cuáles cepas debieran incluirse en la vacuna. La vacuna suele ser un cóctel que contiene uno o dos virus de tipo A y un virus de tipo B de las cepas aisladas en los brotes epidémicos del invierno previo.

Las cepas de siembra seleccionadas se multiplican en huevos embrionados, el sustrato utilizado para la producción de la vacuna. A veces las cepas naturales se multiplican muy deficientemente en los huevos para permitir la producción de la vacuna, en cuyo caso se elabora un virus reensamblado en el laboratorio. El virus reensamblado, que porta los genes para los antígenos de superficie de la vacuna deseada con los genes de replicación de un virus de laboratorio adaptado a un huevo, se utilizan luego para la producción de la vacuna. En 2012 se pudo obtener una vacuna de base celular que utilizaba cultivos de células de animales, que ha superado algunas de las limitaciones de la elaboración basada en huevo.

El virus se obtiene del líquido alantoico de huevo, purificado, concentrado mediante centrifugación zonal e inactivado con formalina o propiolactona β. La cantidad de HA se estandariza en cada dosis de vacuna (cerca de 15 μg de antígeno), pero la cantidad de NA no está normalizada, pues es más lábil bajo las condiciones de purificación y almacenamiento. Cada dosis de vacuna contiene el equivalente a casi 10 000 millones de partículas de virus.

Las vacunas son preparados de virus entero (WV, *whole virus*), de subvirión (SV, *subvirion*) o de antígeno de superficie. La vacuna de WV contiene virus intactos inactivados, la de SV contiene virus purificado que se destruye con detergentes; las vacunas de antígeno de superficie contienen glucoproteínas de HA y NA purificadas. Todas son eficaces.

B. Vacunas de virus vivos

Una vacuna de virus vivos se debe atenuar para no provocar la enfermedad que supuestamente debiera prevenir. En vista del cambio constante de los virus de la gripe en la naturaleza y las

intensas actividades de laboratorio necesarias para atenuar un virus agresivo, la única estrategia factible es idear una manera de transferir genes atenuantes definidos de un virus donador maestro atenuado a cada nueva cepa epidémica o pandémica.

Un virus donador adaptado al frío, con capacidad para proliferar a una temperatura de 25 °C pero no a 37 °C (la temperatura de las vías respiratorias inferiores) debe replicarse en la nasofaringe, la cual tiene una temperatura más fría (33 °C). En Estados Unidos en 2003 se autorizó una vacuna contra la gripe que contenía virus vivo atenuado, adaptado al frío, sensible a temperatura y trivalente, de administración mediante atomización nasal. Fue la primera vacuna de virus de la gripe vivos autorizada en Estados Unidos, y la primera vacuna de administración nasal en ese país.

C. Uso de vacuna de la gripe

La única contraindicación a la vacunación es el antecedente de alergia a la proteína del huevo, aunque tal limitación ha sido superada por medio de la vacuna de origen celular. Cuando las cepas de vacuna proliferan en el huevo, en ellas están presentes algunos antígenos de proteínas del huevo.

Se recomienda la vacunación anual contra la gripe en todos los niños de seis meses a 18 años de edad y en los grupos con alto riesgo. Éstos comprenden los individuos con un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con la gripe (los que tienen cardiopatía o neumopatía crónicas, incluidos los niños con asma, o trastornos metabólicos o renales, residentes de hogares para ancianos; personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], y las personas de 65 y más años de edad), así como los que podrían transmitir la gripe a grupos de alto riesgo (personal médico, empleados de centros de asistencia a enfermedades crónicas, miembros de la familia). La vacuna intranasal de virus vivos en la actualidad no se recomienda en personas de grupos con alto riesgo.

Prevención mediante la higiene de las manos

Aunque la transmisión del virus de la gripe ocurre principalmente mediante propagación en aerosoles, la transmisión a través de las manos puede ser también importante. Los estudios han demostrado que el lavado de manos con jabón y agua o el empleo de frotaciones de las manos con soluciones a base de alcohol son muy eficaces para reducir la cantidad de virus presentes en las manos humanas.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los virus de gripe son importante patógenos del aparato respiratorio.
- El virus de gripe tipo A muestra enorme variabilidad antigénica y ocasiona muchas epidemias y todas las pandemias globales.
- El virus de gripe tipo B a veces experimenta cambios antigénicos y ocasiona epidemias.
- El virus de gripe tipo C es antigénicamente estable.
- Las cepas de gripe A también se encuentran en aves acuáticas, patos, aves domésticas de corral, cerdos y caballos.
- El genoma viral es RNA monocatenario con sentido negativo; consiste en ocho segmentos separados.
- Las glucoproteínas superficiales, la HA y la NA son los elementos de los que dependen la antigenicidad del virus de gripe y la inmunidad que surge en el hospedador.
- Los cambios antigénicos menores en HA y NA (denominados variación antigénica menor) aparecen de manera independiente y son causados por acumulación de mutaciones puntuales.
- Un cambio antigénico mayor de HA o NA (llamado variación antigénica mayor) origina un nuevo subtipo de virus de gripe y proviene del reagrupamiento genético de segmentos genómicos entre los virus humanos y de animales.
- Debido a que muchos virus distintos ocasionan infecciones del aparato respiratorio, es muy difícil hacer el diagnóstico de la infección de gripe sobre bases clínicas y es necesario valerse de métodos de laboratorio.
- La inmunidad a la gripe dura tiempo prolongado y muestra especificidad de subtipo. Solamente los anticuerpos contra HA y NA son protectores.
- Existen vacunas de virus inactivados o de virus vivos, pero continuamente se vuelven obsoletas conforme surgen nuevas variantes antigénicas del virus de gripe.
- Existen fármacos antivirales, pero a menudo aparecen virus resistentes, en particular a los inhibidores del canal iónico M_2.
- Los virus A de gripe aviar H5N1, H7N9 y H9N2 originan infecciones esporádicas en seres humanos, pero no han adquirido la capacidad de transmisiones sostenidas entre personas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto a la prevención y el tratamiento de la gripe es correcta?
   (A) No se recomiendan dosis de refuerzo de la vacuna
   (B) Los fármacos que inhiben la neuraminidasa son activos sólo contra la gripe A
   (C) Al igual que con algunas otras vacunas de microorganismos vivos, la vacuna contra la gripe no debe administrarse a embarazadas
   (D) La vacuna contra la gripe contiene varios serotipos de virus
   (E) Las cepas de virus de la vacuna contra la gripe no varían de un año a otro
2. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la neuraminidasa del virus de la gripe no es correcta?
   (A) Está embebida en la superficie externa de la envoltura viral
   (B) Forma una estructura de espiga que consta de cuatro monómeros idénticos, cada uno de los cuales tiene actividad enzimática
   (C) Facilita la liberación de las partículas virales de células infectadas
   (D) Disminuye la viscosidad de la película de moco en el sistema respiratorio
   (E) Es antigénicamente similar en todos los virus de la gripe de mamíferos
3. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones refleja la patogenia de la gripe?
   (A) El virus entra en el hospedador en las gotitas de las secreciones respiratorias presentes en el aire

(B) La viremia es frecuente
(C) El virus a menudo establece infecciones persistentes en el pulmón
(D) La neumonía no se relaciona con infecciones bacterianas secundarias
(E) La infección viral no destruye las células en un sistema respiratorio

4. ¿Cuál de los siguientes síntomas no es característico de la gripe?
(A) Fiebre
(B) Mialgias
(C) Malestar general
(D) Tos seca
(E) Exantema

5. ¿En cuál componente viral se encuentra el antígeno de tipo específico (A, B o C) de los virus de la gripe?
(A) Hemaglutinina
(B) Neuraminidasa
(C) Nucleocápside
(D) Complejo de polimerasa
(E) Proteína no estructural mayor
(F) Lípido en la envoltura viral

6. Una paciente de 70 años de edad internada en un asilo se rehusó a la vacuna contra la gripe y después presentó la enfermedad. Falleció por neumonía aguda una semana después de contraer gripe. ¿Cuál de las siguientes es la causa más frecuente de la neumonía aguda después de la gripe?
(A) Legionella
(B) *Staphylococcus aureus*
(C) Sarampión
(D) Citomegalovirus
(E) Listeria

7. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la variación antigénica menor en los virus de la gripe es correcta?
(A) Produce cambios antigénicos importantes
(B) Se manifiesta sólo por los virus de la gripe A
(C) Se debe a mutaciones de cambio de marco de lectura en los genes virales
(D) Produce nuevos subtipos con el tiempo
(E) Afecta predominantemente a la proteína de la matriz

8. Un médico de 32 años de edad presentó un síndrome "similar a la gripe" caracterizado por fiebre, faringitis, cefalea y mialgias. Para poder obtener la confirmación de la gripe mediante el análisis de laboratorio, se ordenó un cultivo del virus. ¿Cuál de los siguientes sería la mejor muestra para aislar el virus causante de esta infección?
(A) Heces
(B) Lavado nasofaríngeo
(C) Líquido vesicular
(D) Sangre
(E) Saliva

9. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto al aislamiento de los virus de la gripe es correcta?
(A) El diagnóstico de una infección del virus de la gripe sólo puede confirmarse aislando el virus
(B) El aislamiento del virus de la gripe se realiza con ratones recién nacidos
(C) El aislamiento del virus puede ayudar a determinar la epidemiología de la enfermedad
(D) Las cepas primarias del virus de la gripe proliferan fácilmente en el cultivo celular

10. ¿Cuál de los siguientes parece ser el principal reservorio de las variantes antigénicas del virus de la gripe?
(A) Portadores humanos crónicos del virus
(B) Aguas residuales
(C) Cerdos, caballos y aves de corral
(D) Mosquitos
(E) Roedores

11. El virus de la gripe aviar H5N1 muy patógeno (HPAI) puede infectar al ser humano con una elevada tasa de mortalidad, pero todavía no ha producido una pandemia. Las siguientes son características del HPAI, excepto una. ¿Cuál no es?
(A) Transmisión de humano a humano eficiente
(B) Presencia de genes de la gripe aviar
(C) Infección eficiente de aves de corral domésticas
(D) Contiene genomas de RNA segmentado

12. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las pruebas diagnósticas de la gripe es correcta?
(A) Los síntomas clínicos distinguen de manera fiable la gripe de otras enfermedades respiratorias
(B) El cultivo viral es la prueba diagnóstica de referencia, pues es el análisis más rápido
(C) Las respuestas de anticuerpo del paciente son muy específicas de la cepa que infecta al virus de la gripe
(D) Se prefiere la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa por su rapidez, sensibilidad y especificidad

13. El mecanismo de variación antigénica menor en el caso de los virus de gripe incluye los siguientes fenómenos, excepto:
(A) Participan antígenos de hemaglutinina o de neuraminidasa
(B) Las mutaciones se producen por la RNA polimerasa de virus
(C) Predomina en poblaciones selectivas de hospedadores, bajo presiones inmunitarias
(D) Existe reagrupamientos genéticos entre los reservorios de seres humanos, animales o aves
(E) Puede incluir genes que codifican proteínas estructurales o no estructurales

14. Las afirmaciones siguientes en cuanto a la prevención y el tratamiento de gripe son correctas, *excepto*:
(A) La vacuna de virus de gripe inactivada contiene el virus H1N1, pero la elaborada con virus vivos atenuados contiene el virus H3N2
(B) Se recomienda la aplicación anual de la vacuna porque hay variaciones en la antigenicidad del virus
(C) El oseltamivir es eficaz contra los virus de gripe A y B
(D) El antígeno principal en la vacuna que induce la aparición de anticuerpos protectores es la hemaglutinina

15. Las aseveraciones siguientes respecto a la antigenicidad del virus de gripe A son correctas, *excepto*:
(A) Las variaciones antigénicas mayores, que representan modificaciones importantes en la antigenicidad, aparecen con poca frecuencia y son causadas por el reagrupamiento de los segmentos del genoma viral
(B) Las variaciones antigénicas mayores incluyen la hemaglutinina y la neuraminidasa
(C) Las epidemias mundiales causadas por virus de gripe A son causadas por variaciones antigénicas mayores
(D) La proteína que interviene en una variación antigénica menor es predominantemente la ribonucleoproteína interna

16. De los siguientes microorganismos infecciosos, ¿cuál es el que más a menudo causa una pandemia?
(A) Virus de la gripe A
(B) *Streptococcus pyogenes*
(C) Virus de la gripe B
(D) Virus sincicial respiratorio
(E) Virus de la gripe C

Respuestas

1. D	5. C	9. C	13. D
2. E	6. B	10. C	14. A
3. A	7. D	11. A	15. D
4. E	8. B	12. D	16. A

BIBLIOGRAFÍA

Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1.

Avian influenza fact sheet. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2006;81:129.

Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD, *et al*.: Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet* 2008;371:1464.

Horimoto T, Kawaoka Y: Influenza: Lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:591.

Influenza vaccination of health-care personnel. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-2):1.

Medina RA, García-Sastre A: Influenza A viruses: New research developments. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:590.

Neumann G, Noda T, Kawaoka Y: Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 2009;459:931.

Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, *et al*.: Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science* 2006;312:384.

Palese P, Shaw ML: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Prevention and control of influenza with vaccines. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-8):1.

Seasonal and pandemic influenza: At the crossroads, a global opportunity. *J Infect Dis* 2006;194(Suppl 2). [Entire issue.]

Special section: Novel 2009 influenza A H1N1 (swine variant). *J Clin Virol* 2009;45:169. [10 articles.]

Swerdlow DL, Finelli L, Bridges CB (guest editors): The 2009 H1N1 influenza pandemic: field and epidemiologic investigations. *Clin Infect Dis* 2011;52(Suppl 1). [Entire issue.]

Taubenberger JK, Morens DM (guest editors): Influenza. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1. [Entire issue.]

Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y: Orthomyxoviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

CAPÍTULO 40

Paramixovirus y virus de la rubéola

Dentro de los paramixovirus se encuentran los microorganismos más importantes de las infecciones respiratorias en lactantes y preescolares (virus sincitial respiratorio [RSV, *respiratory syncytial*] y los virus de parainfluenza), así como los microorganismos causantes de dos de las enfermedades contagiosas más frecuentes en la infancia (parotiditis y sarampión). La Organización Mundial de la Salud estima que las infecciones respiratorias agudas y la neumonía cada año son causa de la muerte de 4 millones de niños menores de cinco años de edad en todo el mundo. Los paramixovirus son los principales microorganismos patógenos del aparato respiratorio en este grupo de edad.

Todos los miembros de la familia **Paramyxoviridae** inician la infección por el aparato respiratorio. En tanto la replicación de microorganismos patógenos respiratorios se restringe a los epitelios respiratorios, el sarampión y la parotiditis se diseminan por todo el organismo y producen enfermedad generalizada.

El virus de la rubéola, aunque clasificado como un togavirus por sus propiedades químicas y físicas (capítulo 29), puede considerarse dentro de los paramixovirus en términos epidemiológicos.

PROPIEDADES DE LOS PARAMIXOVIRUS

En el cuadro 40-1 se enumeran las principales propiedades de los paramixovirus.

Estructura y composición

Los **paramyxoviridae** son pleomorfos, con partículas de 150 nm o más de diámetro, que a veces fluctúan hasta los 700 nm. En la figura 40-1 se muestra una partícula característica. La envoltura de los paramixovirus al parecer es frágil y hace que las partículas virales sean lábiles a las condiciones de almacenamiento y propensas a la distorsión en las microfotografías electrónicas.

El genoma viral es RNA lineal, de sentido negativo, monocatenario y no segmentado, de unas 15 kb de tamaño (figura 40-2). Puesto que el genoma no está segmentado, esto impide toda oportunidad de reagrupamiento genético frecuente, lo que da por resultado estabilidad antigénica.

La mayor parte de los paramixovirus contiene seis proteínas estructurales. Tres proteínas forman complejos con el RNA viral: la nucleoproteína (N) que forma la nucleocápside helicoidal (13 o 18 nm de diámetro) y representa la proteína interna principal y otras dos proteínas grandes (designadas P y L), que intervienen en la actividad de la polimerasa viral que funciona en la transcripción y la replicación de RNA.

Tres proteínas participan en la formación de la envoltura viral. Una proteína de la matriz (M) subyace a la envoltura viral; tiene una afinidad tanto por las glucoproteínas N como las de la superficie viral y es importante en el ensamble del virión. La nucleocápside está rodeada por una envoltura lipídica que está tachonada de espigas de 8 a 12 nm de dos diferentes glucoproteínas transmembrana. Las actividades de estas glucoproteínas de superficie ayudan a diferenciar los distintos géneros de la familia Paramixoviridae (cuadro 40-2). Algunas veces la glucoproteína más grande (HN o G) posee actividades de hemaglutinación y neuraminidasa y se encarga de la adhesión a la célula hospedadora. Se ensambla como un tetrámero en el virión maduro. La otra glucoproteína (F) sirve de mediadora de la fusión de la membrana y de actividades de hemolisina. Los neumovirus y los metaneumovirus contienen otras dos proteínas de envoltura pequeñas (M2-1 y SH).

En la figura 40-3 se muestra un esquema de una partícula de paramixovirus.

Clasificación

La familia Paramixoviridae se divide en dos subfamilias y siete géneros, de los cuales seis contienen microorganismos patógenos humanos (cuadro 40-2). La mayor parte de los miembros son monotípicos (es decir, constan de un solo serotipo); todos son antigénicamente estables.

El género *Respirovirus* contiene dos serotipos de virus de la parainfluenza humana, y el género *Rubulavirus* contiene otros dos virus de parainfluenza, así como virus de la parotiditis. Algunos virus animales están relacionados con las cepas humanas. El virus Sendai de los ratones, que fue el primer virus de parainfluenza que se aisló y que ahora se reconoce como una infección frecuente en colonias de ratones, es un subtipo de virus tipo 1 humano. El virus 5 de la parainfluenza del simio (PIV5), un contaminante frecuente de las células primarias de simio, es el mismo que el de la parainfluenza canina tipo 2, en tanto que el virus de la fiebre del transporte de ganado vacuno y ovino es un subtipo del tipo 3. El virus de la enfermedad de Newcastle, el prototipo de virus de la parainfluenza aviar del género *Avulavirus,* también está relacionado con los virus humanos.

Los miembros dentro de un género tienen determinantes antigénicas en común. Si bien los virus se pueden distinguir antigénicamente con reactivos bien definidos, la hiperinmunización estimula los anticuerpos de reacción cruzada que

apter 40_Carroll_4R.indd 579 15/04/16

CUADRO 40-1 Propiedades importantes de los paramixovirus

Virión: Esférico, pleomorfo, 150 nm o más de diámetro (nucleocápside helicoidal, 13 a 18 nm)	
Composición: RNA (1%), proteína (73%), lípidos (20%), hidrato de carbono (6%)	
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de cadena de sentido negativo, no infeccioso, de unas 15 kb	
Proteínas: Seis a 8 proteínas estructurales	
Envoltura: Contiene la glucoproteína viral (G, H o HN) (que a veces es portadora de actividad de hemaglutinina o neuraminidasa) y glucoproteína de fusión (F); muy frágil	
Replicación: Citoplasma; las partículas experimentan gemación desde la membrana plasmática	
Características sobresalientes: Antigénicamente estable; Las partículas son lábiles pero muy infecciosas	

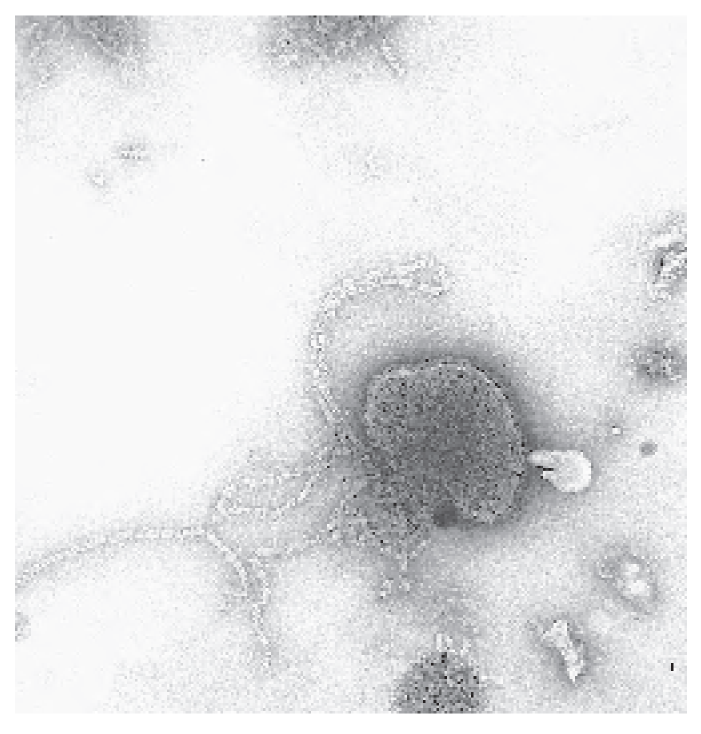


FIGURA 40-1 Ultraestructura del virus de parainfluenza tipo 1. El virión está parcialmente roto y muestra la nucleocápside. Las proyecciones de la superficie son visibles a lo largo del borde de la partícula. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

reaccionan con los cuatro virus de parainfluenza, el virus del sarampión y el virus de la enfermedad de Newcastle. Tales respuestas de anticuerpo heterotípico, que comprenden anticuerpos dirigidos contra las proteínas internas y de superficie del virus, suelen observarse en los ancianos. Este fenómeno dificulta determinar mediante serodiagnóstico el tipo infectante más probable. Todos los miembros de los géneros *Respirovirus*

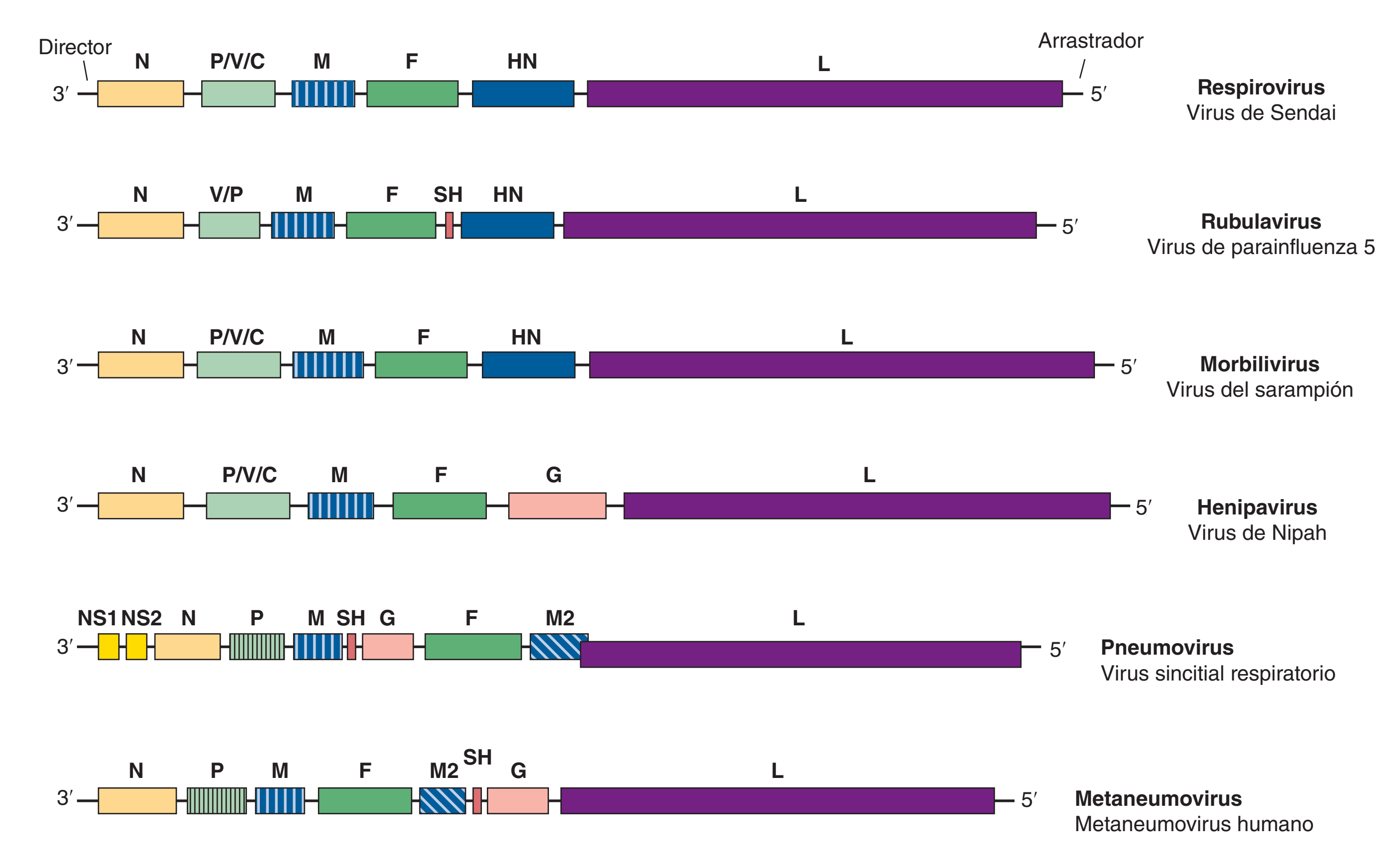


FIGURA 40-2 Mapas genéticos de miembros representativos de los géneros de la familia Paramixoviridae. Los tamaños de los genes (cuadros) están dibujados aproximadamente a escala. (Copyright GD Parks and RA Lamb, 2006.)

CUADRO 40-2 Características de los géneros de las subfamilias de la familia Paramixoviridae

	Paramyxovirinae				Pneumovirinae	
Propiedad	**Respirovirus**	**Rubulavirus**	**Morbillivirus**	**Henipavirusa**	**Pneumovirus**	**Metapneumovirus**
Virus humanos	Parainfluenza 1, 3	Parotiditis, parainfluenza 2, 4a, 4b	Sarampión	Hendra, Nipah	Virus sincitial respiratorio	Metaneumovirus humano
Serotipos	1 cada uno	1 cada uno	1	Desconocido	2	Muchos
Diámetro de la nucleocápside (nm)	18	18	18	18	13	13
Fusión de membrana (proteína F)	+	+	+	+	+	+
Hemolisina[b]	+	+	+	Desconocido	0	0
Hemaglutinina[c]	+	+	+	0	0	0
Hemadsorción	+	+	+	0	0	0
Neuraminidasa[c]	+	+	0	0	0	0
Inclusiones	C	C	N,C	C	C	C

[a] Paramixovirus zoonótico.

[b] Actividad de hemolisina de la glucoproteína F.

[c] Las actividades de hemaglutinación y neuraminidasa se deben a la glucoproteína HN de los respirovirus y los rubulavirus; la glucoproteína H de los morbilivirus carece de actividad de neuraminidasa; la glucoproteína G de otros paramixovirus carece de las dos actividades.

C, citoplasma; N, núcleo.

y *Rubulavirus* poseen actividades hemaglutinantes y de neuraminidasa, ambas portadas por la glucoproteína HN, así como propiedades de fusión de membrana y hemolisina, las dos funciones de la proteína F.

El género *Morbillivirus* contiene el virus del sarampión (rubéola) del ser humano, así como el virus del moquillo de los perros, el virus de la peste bovina y los morbilivirus acuáticos que infectan a mamíferos marinos. Estos virus tienen una relación antigénica entre sí pero no con los miembros de los otros géneros. La proteína F se conserva en alto grado entre los morbilivirus, en tanto que las proteínas HN/G muestran más variabilidad. El virus del sarampión tiene una hemaglutinina pero carece de actividad de neuraminidasa. El virus del sarampión desencadena la formación de inclusiones intranucleares, a diferencia de otros paramixovirus.

El género *Henipavirus* contiene paramixovirus zoonóticos que pueden infectar y causar enfermedades en el ser humano. Los virus Hendra y Nipah, los dos naturales de los murciélagos de la fruta, son miembros del género. Estos virus carecen de actividad de neuraminidasa.

Los virus sincitiales respiratorios de seres humanos y del ganado bovino y el virus de la neumonía de los ratones constituyen el género *Pneumovirus*. Hay dos cepas antigénicamente distintas del RSV del ser humano, los subgrupos A y B. La glucoproteína de superficie más grande de los neumovirus carece de las actividades hemaglutinante y de neuraminidasa características de los respirovirus y los rubulavirus, de manera que se designa la proteína G. La proteína F del RSV muestra una actividad de fusión de membrana pero ninguna actividad de hemolisina. Los microorganismos patógenos respiratorios recién reconocidos en el ser humano se clasifican bajo el género *Metapneumovirus*.

FIGURA 40-3 Diagrama esquemático de un paramixovirus que muestra los principales componentes (no dibujados a escala). La proteína de la matriz viral (M) subyace a la bicapa lipídica. Insertadas a través de la membrana viral están la glucoproteína de adhesión hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y la glucoproteína de fusión (F). Sólo algunos paramixovirus contienen la proteína SH. En el interior del virus se localiza el RNA del virión de cadena de sentido negativo, envuelto en la proteína de la nucleocápside (N). Las proteínas L y P están asociadas a la nucleocápside y en conjunto este complejo tiene una actividad de transcriptasa de RNA dependiente de ácido ribonucleico. La proteína V sólo se encuentra en los viriones de rubulavirus. (Copyright GD Parks y RA Lamb, 2006.)

apter 40_Carroll_4R.indd 581 15/04/16

Replicación del paramixovirus

En la figura 40-4 se ilustra el ciclo de replicación característico del paramixovirus.

A. Adhesión, penetración y desenvoltura del virus

Los paramixovirus se adhieren a las células hospedadoras a través de la glucoproteína hemaglutinina (HN, H o proteína G). En el caso del virus del sarampión, el receptor es la molécula CD46 de membrana o la molécula CD150. Acto seguido, la envoltura del virión se fusiona con la membrana celular por la acción del producto de desdoblamiento de la glucoproteína F_1 de fusión. La proteína F_1 experimenta un repliegue complejo durante el proceso de fusión de la membrana viral y celular. Si no está desdoblado el precursor de F_0, no tiene actividad de fusión, no ocurre penetración del virión y la partícula viral no puede iniciar la infección. La fusión por F_1 ocurre en el pH neutral del medio extracelular, lo que permite la liberación directa de la nucleocápside viral en la célula. Por consiguiente, los paramixovirus pueden desviar la interiorización por medio de los endosomas.

B. Transcripción, traducción y replicación de RNA

Los paramixovirus contienen un genoma de RNA no segmentado, de cadena de sentido negativo. Los transcriptos de RNA

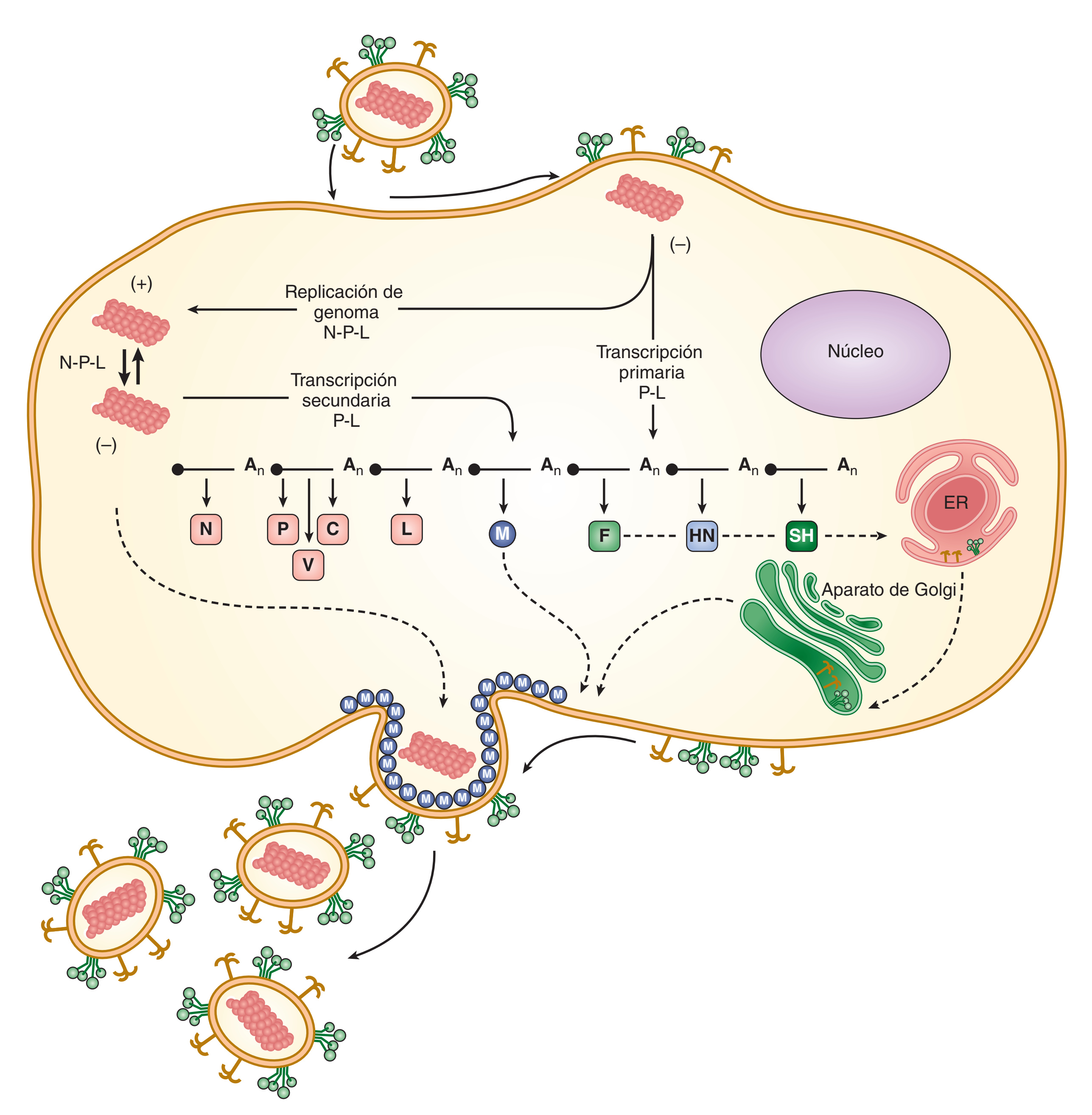


FIGURA 40-4 Ciclo de vida del paramixovirus. La partícula viral infectante se fusiona con la membrana plasmática y libera la nucleocápside viral hacia el citoplasma. Las *líneas continuas* representan transcripción y replicación del genoma. Las *líneas punteadas* indican el transporte de proteínas virales recién sintetizadas a la membrana plasmática. Los viriones de la progenie son liberados de la célula por un proceso de gemación. Todo el ciclo de replicación del paramixovirus ocurre en el citoplasma de la célula. ER, retículo endoplásmico. (Copyright GD Parks y RA Lamb, 2006.)

mensajero se elaboran en el citoplasma celular por la acción de la polimerasa de RNA viral. No son necesarios los sensibilizadores exógenos y, por lo tanto, no hay dependencia de las funciones nucleares de la célula. Los mRNA son mucho más pequeños que el tamaño genómico; cada uno representa un solo gen. Las secuencias reguladoras de la transcripción en los límites del gen señalan el inicio de la transcripción y la terminación. La posición de un gen en relación con el extremo 3′ del genoma guarda relación con la eficiencia de la transcripción. La clase de transcriptos más abundantes que produce una célula infectada es del gen N, situado más cerca del extremo 3′ del genoma, en tanto que la menos abundante es la del gen L situado en el extremo 5′ (figura 40-2).

Las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma, y la cantidad de cada producto de gen corresponde al grado de transcriptos de mRNA de ese gen. Las glucoproteínas virales son sintetizadas y glucosiladas en la vía secretora.

El complejo de proteína de la polimerasa viral (proteínas P y L) también se encarga de la replicación del genoma viral. Para la síntesis satisfactoria de un molde intermedio antigenoma de sentido positivo, el complejo de polimerasa debe descartar las señales de terminación interpuestas en los límites del gen. Después, los genomas de la progenie de longitud completa son copiados del molde antigenómico.

El genoma no segmentado de los paramixovirus niega la posibilidad de revolver de nuevo el segmento del gen (es decir, el reagrupamiento genético) tan importante para la evolución natural de los virus de la gripe (influenza). Las proteínas de superficie HN/H/G y F de los paramixovirus muestran una variación antigénica mínima por periodos prolongados. Es sorprendente que no experimenten variación antigénica como consecuencia de las mutaciones introducidas durante la replicación, ya que las polimerasas de RNA por lo general son propensas a errores. Una posible explicación es que casi todos los aminoácidos de las estructuras primarias de las glucoproteínas de paramixovirus pueden intervenir en sus funciones estructurales o funcionales, por lo que queda poca oportunidad para las sustituciones que no reducirían mucho la viabilidad del virus.

C. Maduración

El virus madura por gemación desde la superficie celular. Las nucleocápsides de la progenie se forman en el citoplasma y emigran hacia la superficie de la célula. Son atraídas a los lugares de la membrana plasmática que están tachonados de espigas de glucoproteína viral HN/H/G y F_0. La proteína M es esencial para la formación de partículas y sirve de enlace de la envoltura viral con la nucleocápside. Durante la gemación, la mayor parte de las proteínas del hospedador es excluida de la membrana.

La actividad de neuraminidasa de la proteína HN de los virus de parainfluenza y el virus del sarampión parece actuar para impedir la autoagregación de partículas virales. Otros paramixovirus no poseen actividad de neuraminidasa (cuadro 40-2).

Si están presentes las proteasas apropiadas de la célula hospedadora, las proteínas de F_0 de la membrana plasmática se activarán mediante desdoblamiento. La proteína de fusión activada producirá luego la fusión de membranas celulares adyacentes, lo que da por resultado la formación de grandes sincitios (figura 40-5). La formación de sincitios es una respuesta frecuente a la infección por paramixovirus. Por lo regular se forman inclusiones citoplásmicas acidófilas (figura 40-5). Se considera que las inclusiones reflejan lugares de síntesis viral y se ha demostrado que contienen nucleocápsides reconocibles y proteínas virales. El virus del sarampión también produce inclusiones intranucleares (figura 40-5).

INFECCIONES POR EL VIRUS DE PARAINFLUENZA

Los virus de parainfluenza son ubicuos y producen enfermedades respiratorias frecuentes en personas de todas las edades. Son microorganismos patógenos importantes que causan enfermedades respiratorias graves en los lactantes y en los niños pequeños. Son frecuentes las reinfecciones por los virus de parainfluenza.

Patogenia y anatomía patológica

La replicación del virus de parainfluenza en el hospedador con buena respuesta inmunitaria al parecer se limita a los epitelios respiratorios. La viremia, si se llega a presentar, es infrecuente. La infección puede afectar sólo la nariz y la garganta, y producir un síndrome de "resfriado común". Sin embargo, la infección puede ser más extensa y, sobre todo con los tipos 1 y 2, puede afectar la laringe y la porción superior de la tráquea, lo que da lugar a laringotraqueobronquitis (crup); esta enfermedad se caracteriza por obstrucción respiratoria debida a edema de la laringe y estructuras relacionadas. La infección puede diseminarse hacia la porción inferior de la tráquea y los bronquios, y culminar en una neumonía o una bronquiolitis, sobre todo con el virus tipo 3, pero con una frecuencia mucho menor que la observada con el virus sincitial respiratorio.

La duración de la eliminación del virus de parainfluenza es de casi una semana después que comienza la enfermedad; algunos niños pueden excretar el virus varios días antes de que aparezcan los síntomas. El virus tipo 3 se puede excretar hasta cuatro semanas después del inicio de la enfermedad primaria. Esta eliminación persistente en los preescolares facilita la propagación de la infección. La propagación viral puede prolongarse en niños con alteraciones de la función inmunitaria y en adultos con neumopatías crónicas.

Los factores que determinan la gravedad de la enfermedad por el virus de parainfluenza no están claros, pero comprenden las propiedades virales y del hospedador, por ejemplo la susceptibilidad de la proteína al desdoblamiento por diferentes proteasas, la producción de una proteasa apropiada por las células hospedadoras, el estado inmunitario del paciente y la hiperreactividad de las vías respiratorias.

La producción de anticuerpos IgE específicos del virus durante las infecciones primarias se ha relacionado con la gravedad de la enfermedad. El mecanismo puede consistir en la liberación de mediadores de la inflamación que modifican la función de las vías respiratorias.

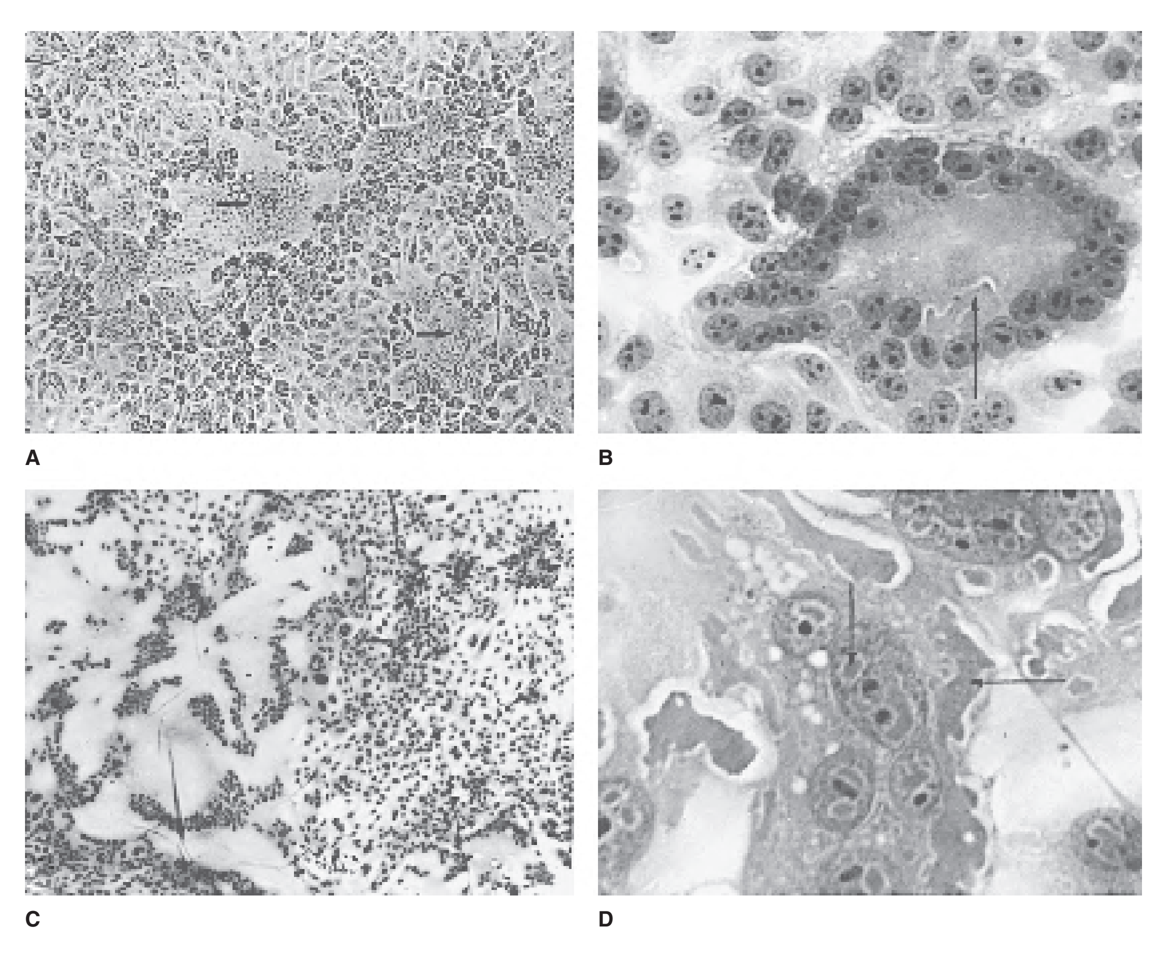


FIGURA 40-5 Formación sincitial inducida por los paramixovirus. **A:** Virus sincitial respiratorio en las células MA104 (sin tinción, 100 ×). Los sincitios (*flechas*) se deben a la fusión de membranas plasmáticas. Los núcleos se acumulan en el centro. **B:** Virus sincitial respiratorio en células HEp-2 (tinción con H y E, 400×). El sincitio contiene muchos núcleos e inclusiones citoplásmicas acidófilas (*flecha*). **C:** Virus del sarampión en las células renales humanas (tinción de H y E, 30×). Un enorme sincitio contiene centenares de núcleos. **D:** Virus del sarampión en células renales humanas (tinción de H y E, 400×). La célula gigante multinucleada contiene inclusiones nucleares acidófilas (*flecha vertical)* e inclusiones citoplásmicas (*flecha horizontal).* (Utilizado con autorización de I Jack.)

Manifestaciones clínicas

En el cuadro 30-5 se indica la importancia relativa de los virus de parainfluenza como causa de las enfermedades respiratorias en diferentes grupos de edad. En la figura 40-6 se muestra la variación estacional de las infecciones de vías respiratorias bajas en niños pequeños.

Las infecciones primarias en los preescolares por lo general producen rinitis y faringitis, a menudo con fiebre y algo de bronquitis. Sin embargo, algunos niños con infecciones primarias causadas por los virus de parainfluenza tipos 1, 2 o 3 tienen una enfermedad grave, que va de laringotraqueítis y laringotraqueobronquitis (sobre todo los tipos 1 y 2) a bronquiolitis y neumonía (sobre todo por el tipo 3). La enfermedad grave producida por el tipo 3 se presenta sobre todo en los lactantes de menos de seis meses de edad; el *crup* o laringotraqueobronquitis tiene más posibilidades de presentarse en los niños mayores, de entre seis y 18 meses de edad. Más de la mitad de las infecciones iniciales por los virus de la parainfluenza tipos 1, 2 o 3 producen enfermedad febril. Se estima que sólo 2 a 3% presenta laringotraqueobronquitis. El virus de la parainfluenza tipo 4 no produce enfermedad grave, ni siquiera en la primera infección.

La complicación más frecuente de la infección por el virus de la parainfluenza es la otitis media.

Los niños y los adultos inmunodeprimidos son susceptibles a las infecciones graves. Las tasas de mortalidad tras la infección por el virus de la parainfluenza en receptores de trasplante de médula ósea fluctúan de 10 a 20 por ciento.

El virus de la enfermedad de Newcastle es un paramixovirus aviar que produce neumoencefalitis en pollos jóvenes y “gripe” en aves más viejas. En el ser humano, produce inflamación de la conjuntiva. El restablecimiento es completo en un lapso de 10 a 14 días. La infección en el ser humano es una enfermedad laboral exclusiva de los trabajadores que manipulan aves infectadas.

Inmunidad

Los virus de la parainfluenza tipos 1, 2 y 3 son serotipos distintos que carecen de neutralización cruzada importante (cuadro 40-2). Casi todos los lactantes tienen anticuerpos maternos contra los virus presentes en el suero, pero estos anticuerpos no evitan la infección o la enfermedad. La reinfección de niños mayores y adultos también se presenta cuando los

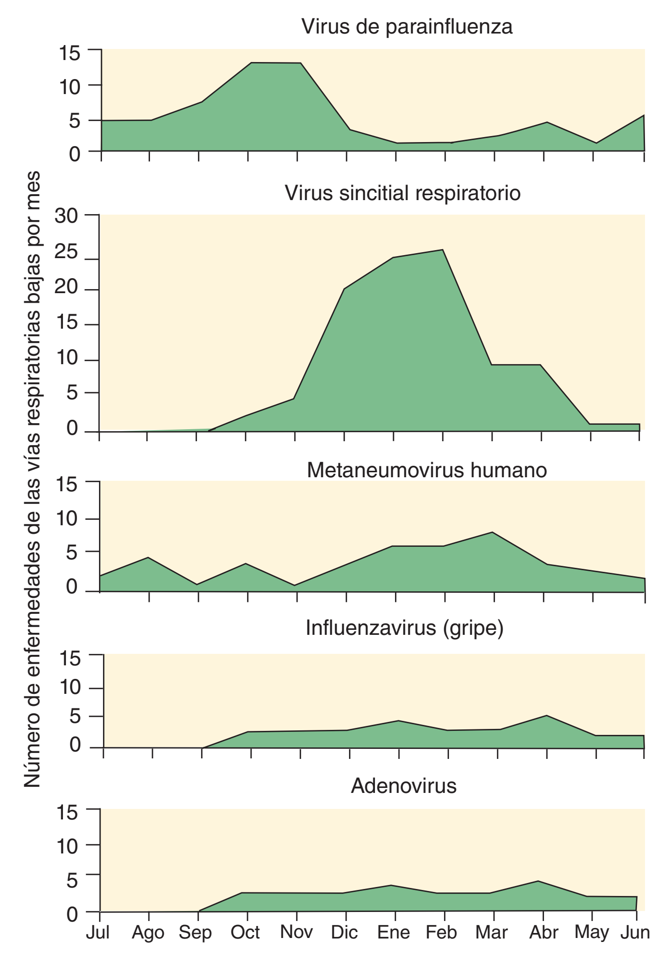


FIGURA 40-6 Patrones de infecciones de las vías respiratorias bajas en lactantes y preescolares con paramixovirus y otros virus. Datos derivados de 25 años de vigilancia (1976-2001), que abarcan 2 009 niños desde el nacimiento hasta los cinco años de edad. (Reproducida con autorización de Williams JV *et al.*: Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004; 350:443-450. Copyright © 2004 Massachusetts Medical Society.)

anticuerpos son desencadenados por una infección previa. Sin embargo, los anticuerpos modifican la enfermedad, ya que tales reinfecciones suelen manifestarse tan sólo como infecciones de las vías respiratorias altas afebriles (resfriados comunes).

La infección natural estimula la aparición de anticuerpos IgA (inmunoglobulina A) en las secreciones nasales y la resistencia concomitante a la reinfección. Los anticuerpos IgA secretores son muy importantes para brindar protección contra la reinfección, pero desaparecen a los pocos meses. Por consiguiente, las reinfecciones son frecuentes incluso en los adultos.

Los anticuerpos séricos se elaboran contra las proteínas de superficie viral HN y F, pero se desconoce su función relativa como determinante de la resistencia. A medida que ocurren las reinfecciones sucesivas, la respuesta de anticuerpos se vuelve menos específica debido a los determinantes antigénicos compartidos entre los virus de la parainfluenza y el virus del sarampión. Esto dificulta el diagnóstico de los paramixovirus específicos relacionados con una determinada infección mediante los análisis serológicos.

Diagnóstico de laboratorio

Las pruebas de amplificación de ácido nucleico son las técnicas diagnósticas preferidas, por su sensibilidad y especificidad, su capacidad de detectar virus de muy diverso tipo y la rapidez con que se obtienen los resultados.

Los métodos de detección de antígenos también permiten establecer el diagnóstico rápido. La respuesta inmunitaria a la infección inicial por el virus de la parainfluenza en la vida es específica de tipo. Sin embargo, con las infecciones repetidas, la respuesta se vuelve menos específica y las reacciones cruzadas se extienden incluso al virus de la parotiditis. El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento del virus en muestras apropiadas.

A. Detección de ácido nucleico

Los análisis de la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR, *reverse transcription polymerase chain reaction*) sirven para detectar el RNA viral en hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos o muestras de vías respiratorias bajas, por ejemplo líquido de lavado broncoalveolar. Los análisis de secuencia son de utilidad en estudios de epidemiología molecular de infecciones de virus de parainfluenza.

B. Detección de antígeno

La detección de antígenos virales puede realizarse en células nasofaríngeas exfoliadas con pruebas de inmunofluorescencia directa o indirecta. La realización de tales métodos es rápida y sencilla, pero tienen como desventajas su escasa sensibilidad y el corto número de virus detectado.

C. Aislamiento e identificación del virus

Los métodos de cultivo celular rápido detectan diversos virus del aparato respiratorio que pueden ser cultivados *in vitro*, pero son más lentos en proveer resultados que los métodos de detección de ácido nucleico o antígeno y no detectan con facilidad infecciones mixtas. Un linaje continuo de nefronas de mono, LLC-MK2, es adecuado para el aislamiento de los virus de parainfluenza. La inoculación rápida de las muestras en cultivos celulares es importante para el aislamiento viral satisfactorio, ya que la infecciosidad viral desciende con rapidez. Para el diagnóstico rápido, las muestras se inoculan en células que proliferan en portaobjetos en tubos especiales y se incuban. Sólo tres días después se fijan las células y se marcan con inmunofluorescencia. Otra forma de detectar la presencia del virus consiste en llevar a cabo la hemadsorción con eritrocitos de cobayos. Según la cantidad de virus, pueden necesitarse 10 o más días de incubación antes que los cultivos tengan positividad para hemadsorción. Se necesita cultivo del virus si se desea una cepa para fines de investigación.

D. Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico debe basarse en sueros pares. Las respuestas de anticuerpos se pueden determinar con pruebas de neutralización, inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*) y enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*). Un incremento de cuatro tantos en la cuantificación indica infección por un virus de parainfluenza, lo mismo que la aparición de

anticuerpo de IgM específico. Sin embargo, dados los problemas de los antígenos compartidos, es imposible confiar en el tipo de virus específico causal.

Epidemiología

Los virus de parainfluenza son una causa importante de enfermedad de las vías respiratorias bajas en preescolares (figura 40-6). Los virus de parainfluenza tienen una amplia distribución geográfica. El tipo 3 es el más frecuente y casi dos tercios de los lactantes son infectados durante el primer año de vida; casi todos tienen anticuerpos contra el tipo 3 hacia los dos años de edad. Las infecciones con los tipos 1 y 2 se presentan con una tasa más baja y alcanzan prevalencias de casi 75 y 60%, respectivamente, hacia los cinco años de edad.

El tipo 3 es endémico y se observa un pequeño incremento durante la primavera, en tanto que los tipos 1 y 2 tienden a producir epidemia durante el otoño o el invierno, a menudo en un ciclo de dos años.

Las reinfecciones son frecuentes durante la infancia y en los adultos y producen enfermedades leves en las vías respiratorias altas. Según informes, 67% de los niños son reinfectados con el virus de parainfluenza tipo 3 durante el segundo año de vida. En el caso de reinfecciones, a veces es necesaria la hospitalización de los adultos con enfermedades pulmonares crónicas (p. ej., asma).

Los virus de parainfluenza son transmitidos por el contacto personal directo o por aerosoles de grandes gotas. Se ha aislado el tipo 1 en muestras de aire obtenidas en las cercanías de los pacientes infectados. Las infecciones pueden presentarse en la nariz y los ojos.

Los virus de parainfluenza por lo general se introducen en un grupo por los niños preescolares y luego se propagan con facilidad entre las personas. El periodo de incubación al parecer es de cinco a seis días. El virus tipo 3, sobre todo, por lo general infectará a todas las personas susceptibles en una población semicerrada, como en una familia o en una guardería, en poco tiempo. Los virus de parainfluenza son causas problemáticas de infección intrahospitalaria en los servicios de pediatría de los hospitales. Otras situaciones de alto riesgo son los jardines de niños y las escuelas.

Tratamiento y prevención

Se necesitan precauciones para el aislamiento de los contactos a fin de tratar los brotes intrahospitalarios del virus de parainfluenza. Estas precauciones consisten en restringir los visitantes, aislar a los pacientes infectados y que el personal médico utilice batas y se lave las manos.

Se ha utilizado el fármaco antiviral ribavirina con cierto beneficio en el tratamiento de los pacientes inmunodeprimidos con infecciones de las vías respiratorias bajas.

No se dispone de ninguna vacuna.

INFECCIONES POR EL VIRUS SINCITIAL RESPIRATORIO

El RSV es la causa más importante de infecciones de las vías respiratorias bajas en lactantes y niños pequeños; por lo general supera a otros microorganismos patógenos como causa de bronquiolitis y neumonía en los lactantes menores de un año de edad. Se estima que contribuyen a casi 25% de las hospitalizaciones pediátricas debidas a enfermedades respiratorias en Estados Unidos.

Patogenia y anatomía patológica

La replicación del RSV ocurre al principio en células epiteliales de la nasofaringe. El virus puede diseminarse hacia las vías respiratorias bajas y causar bronquiolitis y neumonía. Se pueden detectar antígenos virales en las vías respiratorias altas y en las células epiteliales esfaceladas. La viremia se presenta raras veces.

El periodo de incubación entre la exposición y el inicio de la enfermedad es de tres a cinco días. La eliminación viral puede persistir por una a tres semanas en los lactantes y en los niños pequeños, en tanto que los adultos propagan los virus sólo durante uno a dos días. Se encuentran cuantificaciones virales altas en las secreciones del aparato respiratorio de niños pequeños. El tamaño del inóculo es un factor importante que determina si ocurre la infección en los adultos (y quizá también en los niños).

Un sistema inmunitario intacto al parecer es importante para resolver una infección, ya que los pacientes con alteraciones de la inmunidad celular pueden infectarse de manera persistente por el virus sincitial respiratorio y diseminar el virus por meses.

Aunque las vías respiratorias de los lactantes muy pequeños son estrechas y se obstruyen con más facilidad por la inflamación y el edema, sólo un subgrupo de lactantes pequeños presenta infección grave por el virus sincitial respiratorio. Se ha informado que la susceptibilidad a la bronquiolitis tiene una relación genética con polimorfismos en genes inmunitarios innatos.

Manifestaciones clínicas

La diversidad de enfermedades respiratorias causadas por el RSV va de la infección no manifiesta o el resfriado común a la neumonía en los lactantes y la bronquiolitis en los lactantes muy pequeños. La bronquiolitis es el síndrome clínico característico que se relaciona con este virus. Cerca de un tercio de las infecciones primarias por RSV afecta las vías respiratorias bajas con gravedad suficiente para necesitar atención médica. Casi 2% de los lactantes infectados necesita hospitalización, lo cual da por resultado unas 75 000 a 125 000 hospitalizaciones cada año en Estados Unidos, con una frecuencia máxima a los dos a tres meses de edad. Se ha señalado que la cantidad más alta de virus presente en las secreciones del aparato respiratorio permite anticipar hospitalizaciones más prolongadas.

La evolución de los síntomas puede ser muy rápida y culminar en el deceso del paciente. Con la disponibilidad de los cuidados intensivos pediátricos modernos, la tasa de mortalidad de los lactantes sanos es baja (alrededor de 1% de los pacientes hospitalizados). Pero si una infección por RSV se superpone a una enfermedad preexistente, como la cardiopatía congénita, la tasa de mortalidad puede ser alta.

La reinfección es frecuente tanto en niños como en adultos. Si bien las reinfecciones tienden a ser sintomáticas, la

enfermedad suele limitarse a las vías respiratorias altas y semejar el resfriado común en personas sanas.

Las infecciones por RSV componen casi un tercio de las infecciones respiratorias en pacientes que reciben trasplante de médula ósea. En casi la mitad de los niños y adultos inmunodeprimidos infectados aparece neumonía, sobre todo si la infección se presenta en las primeras etapas del periodo subsiguiente al trasplante. Las tasas de mortalidad notificadas fluctúan de 20 a 80 por ciento.

La infección en los ancianos puede causar síntomas similares a la enfermedad por el virus de la influenza. A veces se presenta neumonía. Los cálculos de la prevalencia de RSV en los centros de atención de largo plazo comprenden tasas de infección de 5 a 10%, neumonía en 10 a 20% de los infectados y tasas de mortalidad de 2 a 5 por ciento.

Los niños que padecen bronquiolitis y neumonía por RSV durante la lactancia a menudo manifiestan episodios recurrentes de enfermedad sibilante por muchos años. Sin embargo, no se ha demostrado ninguna relación causal entre las infecciones por RSV y las anomalías a largo plazo. Es posible que determinadas personas tengan rasgos fisiológicos subyacentes que las predispongan a infecciones graves por RSV y a enfermedades respiratorias reactivas.

El virus sincitial respiratorio es una causa importante de otitis media. Se estima que 30 a 50% de los episodios que ocurren durante el invierno en los lactantes se deben a infección por RSV.

Inmunidad

Se piensa que las concentraciones altas de anticuerpo neutralizante que son transmitidas por la madre y que están presentes durante los primeros meses de vida son decisivas para la inmunidad protectora contra enfermedades de las vías respiratorias bajas. La enfermedad sincitial respiratoria grave comienza a ocurrir en los lactantes de dos a cuatro meses de edad, cuando las concentraciones de anticuerpos maternos están descendiendo. Sin embargo, la infección primaria y la reinfección pueden presentarse en presencia de anticuerpos virales. El anticuerpo neutralizante en suero al parecer se relaciona en gran medida con la inmunidad contra la enfermedad de las vías respiratorias bajas, pero no de las vías respiratorias altas.

El RSV no es un inductor eficaz de interferón (a diferencia de las infecciones por el virus de la gripe y la parainfluenza, en las cuales las concentraciones de interferón aumentan y se relacionan con la desaparición del virus.

Tanto los anticuerpos séricos como los secretores se producen en respuesta a la infección por RSV. La infección primaria con un subgrupo induce a la formación de anticuerpos de reacción cruzada al virus del otro subgrupo (cuadro 40-2). Los lactantes más pequeños tienen respuestas de anticuerpo secretor IgA e IgG más bajas al RSV que los lactantes mayores. La inmunidad celular es importante en el restablecimiento tras la infección.

Se ha observado una interrelación entre el anticuerpo IgE específico del virus y la gravedad de la enfermedad. Los anticuerpos IgE secretores virales se han relacionado con la presentación de bronquiolitis.

Es evidente que la inmunidad tiene eficacia sólo parcial y a menudo es superada bajo condiciones naturales; son frecuentes las reinfecciones, pero se mitiga la gravedad de la enfermedad que sobreviene.

Diagnóstico de laboratorio

Los métodos descritos para el diagnóstico de virus de parainfluenza son aplicables a RSV. La detección de RSV constituye una prueba de gran peso de que el virus interviene en una enfermedad actual, porque casi nunca se le detecta en personas sanas. Los métodos de elección son la detección de RNA o el antígeno virales en las secreciones respiratorias.

En niños pequeños se encuentran cantidades grandes de virus (103 a 108 unidades formadoras de placa/ml) en hisopos y lavados nasofaríngeos, pero mucho menos en muestras de adultos (< 100 unidades formadoras de placa/ml). La prueba de ácido nucleico es el método preferido y tiene utilidad especial para muestras de adultos en las cuales las cantidades de virus son pequeñas. Estos análisis también ayudan a subtipificar cepas de RSV y a analizar la variación genética en brotes. La detección antigénica es mucho menos sensible que la detección de ácido nucleico.

Es posible aislar RSV de secreciones nasales. El virus es en extremo lábil y hay que inocular las muestras en cultivos celulares de inmediato; la congelación de las muestras clínicas ocasiona pérdida total de la infecciosidad. Las líneas celulares HeLa heteroploides humanas y HEp-2 son las más sensibles para aislar los virus. La presencia de RSV por lo regular se confirma con la aparición de células gigantes y sincitios en cultivos inoculados (figura 40-5). Se necesita a veces el transcurso incluso de 10 días para que surjan los efectos citopáticos. Es posible lograr el aislamiento más rápido de RSV con la inoculación de frascos de centrifugación que contienen cultivos hísticos que crecen en laminillas. Las células pueden ser estudiadas 24 a 48 h después por medio de inmunofluorescencia o RT-PCR. RSV difiere de otros paramixovirus en que no posee una hemaglutinina; en consecuencia, para los métodos diagnósticos no se pueden utilizar técnicas de hemaglutinación ni de hemadsorción.

Los anticuerpos séricos se pueden cuantificar en diversas formas. Si bien es importante medir los anticuerpos en estudios epidemiológicos, en general no se utilizan en las decisiones clínicas.

Epidemiología

El RSV tiene una distribución mundial y se reconoce como el principal microorganismo patógeno de las vías respiratorias en los niños (figura 40-6). Cerca de 70% de los lactantes están infectados hacia el año de edad y casi todos hacia los dos años. La bronquiolitis grave o la neumonía tienden a presentarse en los lactantes de seis semanas a seis meses de edad con una frecuencia máxima a los dos meses. Se puede aislar el virus de la mayoría de los lactantes menores de seis meses que padecen bronquiolitis, pero casi nunca se aísla en lactantes sanos. Las infecciones del subgrupo A al parecer producen enfermedad más grave que las infecciones del subgrupo B. El RSV es la causa más frecuente de neumonía viral en niños menores de cinco años de edad, pero también produce neumonía en ancianos o

apter 40_Carroll_4R.indd 587 15/04/16

en personas con inmunodepresión. La infección por RSV en lactantes mayores y en niños da por resultado una infección del aparato respiratorio más leve que en aquellos menores de seis meses de edad.

El RSV se disemina a través de gotitas grandes y del contacto directo. Aunque el virus es muy lábil, puede sobrevivir en superficies ambientales hasta por 6 h. La principal vía de entrada al hospedador es la nariz y los ojos.

La reinfección ocurre a menudo (pese a la presencia de anticuerpos específicos), pero los síntomas resultantes son los de una infección leve de las vías respiratorias altas (un resfriado común). En las familias con un caso identificado de RSV, es frecuente la diseminación del virus a los hermanos y a los adultos.

El RSV se disemina de manera generalizada en los niños cada año durante la estación de invierno. Aunque persiste durante los meses de verano, los brotes epidémicos tienden a alcanzar su máximo en febrero o en marzo en el hemisferio norte. En zonas tropicales, la epidemia puede coincidir con las estaciones lluviosas.

El RSV produce infecciones intrahospitalarias en salas de recién nacidos y en salas de hospitalización pediátrica. Se transmite sobre todo por el personal hospitalario.

El RSV también es causa de enfermedad sintomática en adultos jóvenes sanos en condiciones de hacinamiento (p. ej., reclutas militares en capacitación básica). En un estudio realizado en el año 2000 se identificó RSV en 11% de los reclutas con síntomas respiratorios. Esto se comparó con la identificación de adenovirus (48%), virus de la gripe (11%) y virus de parainfluenza 3 (3%) en reclutas sintomáticos.

Tratamiento y prevención

El tratamiento de las infecciones graves por RSV consiste, en primer lugar, en medidas de apoyo (p. ej., eliminación de las secreciones, administración de oxígeno). El fármaco antiviral ribavirina está autorizado para tratar las enfermedades de las vías respiratorias bajas causadas por RSV, sobre todo en lactantes con un riesgo alto de enfermedad grave. El fármaco se administra en un aerosol durante tres a seis días. No es útil la ribavirina oral.

La inmunoglobulina con concentraciones altas de anticuerpos contra el RSV tiene poca utilidad. Se dispone de anticuerpos monoclonales antivirales humanizados.

Muchas de las actividades de investigación se han ampliado en un intento por desarrollar una vacuna de RSV. A finales de la década de 1960 se puso a prueba una vacuna experimental con la partícula viral inactivada con formalina. En los receptores aparecieron títulos altos de anticuerpos séricos no neutralizantes, pero cuando los niños inmunizados presentaban una infección subsiguiente con RSV de tipo silvestre, sufrían una enfermedad de las vías respiratorias bajas mucho más grave que los niños del grupo de control. Se señaló que el tratamiento con formalina destruyó los epítopos protectores en el virus o que debido a la falta de estimulación de los receptores tipo Toll, la vacuna indujo sólo anticuerpos de escasa avidez que no eran protectores. En la actualidad no se dispone de ninguna vacuna.

El RSV plantea problemas especiales para el desarrollo de una vacuna. El grupo elegido como objetivo, los recién nacidos, tendría que inmunizarse poco después del nacimiento para obtener protección en el momento de máximo riesgo de infección grave por RSV, y desencadenar una respuesta inmunitaria protectora en esta etapa temprana es difícil en presencia de anticuerpos maternos. Una estrategia que se está analizando es la inmunización materna con una vacuna. El objetivo es garantizar la transferencia de anticuerpo neutralizante específico del virus en concentraciones protectoras a los lactantes y que persista por tres a cinco meses, que es el periodo de máxima vulnerabilidad del recién nacido a las infecciones graves por el virus sincitial respiratorio.

Las medidas de control necesarias cuando ocurren los brotes epidémicos intrahospitalarios son las mismas que las descritas antes para los virus de parainfluenza (aislamiento de contactos, lavado de manos y restricción de visitantes).

INFECCIONES POR METANEUMOVIRUS HUMANO

El metaneumovirus humano es un microorganismo patógeno respiratorio descrito por primera vez en 2001. Se detectó con un método molecular en muestras clínicas de niños con enfermedades respiratorias pero con resultados negativos en las pruebas virales para virus respiratorios conocidos. El metaneumovirus humano puede causar una amplia variedad de enfermedades respiratorias, desde los síntomas leves de las vías respiratorias altas, hasta las infecciones graves de las vías respiratorias bajas en todos los grupos de edad. En general, los síntomas son similares a los causados por RSV.

Patogenia y anatomía patológica

El metaneumovirus humano infecta sólo al ser humano y está relacionado con el metaneumovirus aviar que causa rinotraqueítis en pollos. Consiste en dos subgrupos y al menos cuatro líneas genéticas; estas últimas están distribuidas en todo el mundo; pueden circular múltiples líneas en forma simultánea en el mismo sitio. Al parecer la cepa que predomina en la circulación puede variar de sitios geográficos y de un año a otro.

Se calcula que el periodo de incubación del metaneumovirus es de cuatro a nueve días. La duración de la dispersión de las partículas es de cinco días en niños y varias semanas en hospedadores inmunodeprimidos.

La replicación se circunscribe a las células epiteliales de las vías respiratorias en los hospedadores infectados. El receptor de superficie celular en que actúan el metaneumovirus humano al parecer es la integrina αvβ1. Los efectos citopáticos que induce el metaneumovirus humanos en células cultivadas, como las células del riñón de mono LLC-MK2, son similares a los de RSV.

Manifestaciones clínicas

Los metaneumovirus humanos se relacionan con síntomas muy diversos del aparato respiratorio; estos síntomas pueden ser casi idénticos a los generados por RSV. Los niños por lo regular presentan rinorrea, tos y fiebre y a veces otitis media aguda. Pueden surgir cuadros infecciosos en vías respiratorias

bajas, como bronquiolitis, neumonía, laringotraqueobronquitis y exacerbación del asma. La bronquiolitis en niños al parecer se asocia con menor frecuencia al metaneumovirus que al RSV.

Las poblaciones de riesgo además de los niños son los ancianos y los pacientes inmunodeprimidos. Muchos niños hospitalizados por ataque de metaneumovirus tienen padecimientos crónicos primarios. En pacientes inmunodeprimidos surgen a veces infecciones graves, como en el caso de niños o adultos con cáncer o que han recibido trasplante de médula ósea, o ancianos en asilos o instituciones de cuidado terminal.

Los adultos sanos tienden a mostrar síntomas similares al resfriado común y gripe en respuesta a la infección por metaneumovirus. Las infecciones asintomáticas son más frecuentes que con el virus de gripe o RSV en dicha población.

Inmunidad

La prevalencia de anticuerpos contra el metaneumovirus humano aumenta en niños desde los seis meses, hasta alcanzar casi 100% entre los cinco y 10 años de edad. A pesar de las grandes concentraciones de anticuerpos en adultos, frecuentemente hay reinfecciones. Se ha sugerido que puede haber una inmunidad cruzada limitada en diversas cepas de metaneumovirus y que es posible que la protección mediada por anticuerpos no sea suficiente para evitar la enfermedad.

Diagnóstico de laboratorio

La mejor muestra para detectar metaneumovirus humano es el material de aspiración nasofaríngeo o el obtenido con hisopo. Las técnicas de RT-PCR son los métodos de elección. La identificación de antígenos virales en muestras de aparato respiratorio por medio de tinción de inmunofluorescencia directa es sensible en niños, pero muy deficiente en adultos. La detección de anticuerpos en el suero de pacientes es útil más bien en estudios de investigación.

Epidemiología

Los metaneumovirus humanos son ubicuos y muestran una distribución mundial. Las infecciones se observan en todos los grupos de edad, pero en especial en pacientes pediátricos. Al parecer, las infecciones por metaneumovirus humano en niños pequeños son menos frecuentes que las causadas por RSV, pero más comunes que las que causan los virus de parainfluenza (figura 40-6). La mayor parte de las infecciones ocurren a finales del invierno y comienzos de la primavera en Estados Unidos. El promedio de edad de niños hospitalizados en que se detectan metaneumovirus es de seis a 12 meses, una edad mayor que la observada con RSV (2 a 3 meses).

Pueden circular simultáneamente cepas diferentes de metaneumovirus humano, y las que predominan varían en sitio y con el paso del tiempo.

Tratamiento y prevención

No se dispone de tratamiento específico de las infecciones por metaneumovirus humano, ni se cuenta con ninguna vacuna.

INFECCIONES POR VIRUS DE LA PAROTIDITIS

La parotiditis (paperas) es una enfermedad contagiosa aguda que se caracteriza por el crecimiento no purulento de una o de las dos glándulas salivales. El virus de la parotiditis produce en su mayor parte una enfermedad infantil leve, pero en los adultos son muy frecuentes las complicaciones como la meningitis y la orquitis. Más de un tercio de todas las infecciones por parotiditis son asintomáticas.

Patogenia y anatomía patológica

Los seres humanos son los únicos hospedadores naturales de los virus de la parotiditis. La replicación primaria ocurre en las células epiteliales de la cavidad nasal o de las vías respiratorias altas. Luego, la viremia disemina el virus a las glándulas salivales y a otros órganos y sistemas importantes. La afectación de la glándula parótida no es un paso obligatorio en el proceso infeccioso.

El periodo de incubación puede fluctuar de dos a cuatro semanas, pero suele ser de casi 14 a 18 días. El virus es eliminado en la saliva desde casi tres días antes hasta nueve días después del inicio del edema de las glándulas salivales. Alrededor de un tercio de las personas infectadas no muestran síntomas evidentes (infecciones no manifiestas), pero tienen la misma posibilidad de transmitir la infección. Es difícil controlar la transmisión de la parotiditis debido a los periodos de incubación variables, la presencia del virus en la saliva antes que se presenten los síntomas clínicos y el gran número de casos asintomáticos pero infecciosos.

La parotiditis es una enfermedad viral sistémica con una propensión a replicarse en las células epiteliales en diversos órganos viscerales. El virus a menudo infecta los riñones y se puede detectar en la orina de la mayoría de los pacientes. La viruria persiste hasta 14 días después que comienzan los síntomas clínicos. El sistema nervioso central también suele infectarse y puede estar afectado aun cuando no haya parotiditis.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la parotiditis reflejan la patogenia de la infección. Por lo menos un tercio de todos los casos de parotiditis son asintomáticos, lo que comprende casi todas las infecciones en los niños menores de dos años de edad. El signo más característico de los casos sintomáticos es el edema de las glándulas salivales, que ocurre en casi 50% de los pacientes.

Un periodo prodrómico de malestar y anorexia se acompaña del crecimiento rápido de las glándulas parótidas y también de otras glándulas salivales. El edema puede estar circunscrito a una glándula parótida o una glándula puede crecer varios días antes que la otra. El crecimiento de la glándula se acompaña de dolor.

La afectación del sistema nervioso central es frecuente (10 a 30% de los casos). La parotiditis produce meningitis aséptica y es más frecuente en varones que en mujeres. La meningoencefalitis suele presentarse cinco a siete días después de la inflamación de las glándulas salivales, pero hasta la mitad de los pacientes no tendrán signos clínicos de parotiditis. Se informa meningitis hasta en 15% de los casos y la encefalitis en menos de 0.3%.

Los casos de meningitis por parotiditis y de meningoencefalitis suelen resolverse sin secuelas, aunque la hipoacusia unilateral se presenta en casi 5:100 000 casos. La tasa de mortalidad debida a encefalitis por parotiditis se acerca al 1 por ciento.

Los testículos y los ovarios pueden estar afectados, sobre todo después de la pubertad. Cerca del 20 a 50% de los varones infectados con el virus de la parotiditis presentan orquitis (a menudo unilateral). Dada la falta de elasticidad de la túnica albugínea, que no permite la hinchazón del testículo inflamado, la complicación es en extremo dolorosa. La atrofia del testículo puede ocurrir como resultado de la necrosis por presión, pero raras veces se produce esterilidad. La ovaritis por parotiditis se presenta en casi 5% de las mujeres. Se ha notificado pancreatitis en casi 4% de los casos.

Inmunidad

La inmunidad es permanente después de una sola infección. Sólo hay un tipo antigénico de virus de la parotiditis y no muestra una variación antigénica notable (cuadro 40-2).

Los anticuerpos contra la glucoproteína HN, la glucoproteína F y la proteína de nucleocápside (NP) se desarrollan en el suero después de infección viral. Los anticuerpos al antígeno NP son los primeros en aparecer (tres a siete días después que comienzan los síntomas), pero son transitorios y por lo general desaparecen al cabo de seis meses. Los anticuerpos al antígeno HN se presentan con más lentitud (unas cuatro semanas después del inicio), pero persisten por años.

Los anticuerpos contra el antígeno HN se correlacionan bien con la inmunidad. Se piensa que incluso las infecciones asintomáticas generan inmunidad de por vida. También se produce una respuesta inmunitaria mediada por las células. Se activa el interferón en una etapa temprana de la parotiditis. En personas inmunes, los anticuerpos IgA secretados en la nasofaringe manifiestan una actividad neutralizante.

La inmunidad pasiva es transferida de la madre a la descendencia; por consiguiente, es infrecuente ver parotiditis en lactantes menores de seis meses de edad.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de los casos típicos suele establecerse por las manifestaciones clínicas. Sin embargo, otros agentes infecciosos, fármacos y trastornos pueden causar síntomas similares. En los casos en que no hay parotiditis, las pruebas de laboratorio ayudan a establecer el diagnóstico. Las pruebas comprenden el aislamiento del virus infeccioso, la detección del ácido nucleico viral mediante RT-PCR y diagnóstico serológico.

A. Detección de ácido nucleico

RT-PCR es un método muy sensible que detecta secuencias genómicas de parotiditis en muestras clínicas; identifica el virus en muchas muestras clínicas que arrojan resultados negativos en intentos de aislamiento del virus. Por medio de RT-PCR se identifican cepas del virus, además de aportar información útil en estudios epidemiológicos.

B. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras clínicas más apropiadas para el aislamiento viral son saliva, líquido cefalorraquídeo y orina obtenidas a los pocos días de comenzada la enfermedad. Se puede aislar el virus de la orina hasta por dos semanas. Se prefieren las células de riñón de mono para el aislamiento del virus. Las muestras se deben inocular poco después que se obtienen, ya que el virus de la parotiditis es termolábil. Para un diagnóstico rápido, la inmunofluorescencia en la que se utiliza antisuero específico de parotiditis puede detectar antígenos del virus de la parotiditis ya desde los dos a tres días después de la inoculación en cultivos celulares mediante el método de centrifugación y cultivo.

En los sistemas de cultivo tradicionales, los efectos citopáticos característicos del virus de la parotiditis consisten en redondeamiento de las células y formación de células gigantes. Puesto que no todas las cepas primarias muestran la formación sincitial característica, se puede utilizar la prueba de hemadsorción para demostrar la presencia del hemadsorbente una y dos semanas después de la inoculación.

C. Diagnóstico serológico

La detección simple del anticuerpo de la parotiditis no es suficiente para diagnosticar una infección. Más bien se puede demostrar un aumento del anticuerpo si se utilizan sueros pares: un incremento de cuatro tantos o más en la cuantificación del anticuerpo es signo de infección por parotiditis. Suele utilizarse la prueba de ELISA o HI. Los anticuerpos contra la proteína HN son neutralizantes.

Se puede diseñar ELISA para detectar anticuerpos IgM o IgG específicos de la parotiditis. La IgM de la parotiditis invariablemente se presenta en las primeras etapas de la enfermedad y pocas veces persiste más de 60 días. Por lo tanto, la demostración de la IgM específica de la parotiditis en suero obtenido en las primeras etapas de la enfermedad es muy sugestiva de una infección reciente. Los anticuerpos heterotípicos que inducen las infecciones por el virus de parainfluenza no reaccionan en forma cruzada en la prueba de ELISA para IgM de la parotiditis.

Epidemiología

La parotiditis es endémica en todo el mundo. Aparecen casos durante todo el año en los climas cálidos y alcanzan su máximo en el invierno y la primavera en los climas templados. Las paperas constituyen primordialmente una infección de niños; la incidencia más alta se da entre las edades de cinco y nueve años. Los brotes tienen lugar donde el hacinamiento favorece la diseminación del virus. En los niños menores de cinco años de edad, las paperas suelen causar infección de las vías respiratorias altas sin parotiditis.

La parotiditis es muy contagiosa; la mayoría de las personas susceptibles en un domicilio adquirirán la infección de un miembro infectado. El virus es transmitido por contacto directo, gotitas transmitidas en el aire o fómites contaminados con saliva u orina. Se necesita un contacto más cercano para la transmisión de la parotiditis que para la transmisión del sarampión o la varicela.

Cerca de un tercio de las infecciones por el virus de la parotiditis no son manifiestas. Durante la evolución de la infección asintomática, el paciente puede transmitir el virus a otras personas. Los individuos con parotiditis asintomática adquieren la inmunidad.

La tasa de mortalidad global para la parotiditis es baja (un deceso por 10 000 casos en Estados Unidos), lo cual se debe principalmente a encefalitis.

La frecuencia de parotiditis y complicaciones concomitantes ha disminuido mucho desde el advenimiento de la vacuna de virus vivos. En 1967, el año en que se autorizó la vacuna de la parotiditis, había unos 200 000 casos de parotiditis (y 900 pacientes con encefalitis) en Estados Unidos. De 2001 a 2003 hubo menos de 300 casos de parotiditis cada año.

En 2006 hubo un brote de paperas en Estados Unidos que dio por resultado más de 5 700 casos. Seis estados en el occidente medio notificaron 84% de los casos. El brote epidémico comenzó en un campo universitario entre adultos jóvenes y se propagó a todos los grupos de edad. En el año 2009, en los estados de Nueva York y Nueva Jersey se produjo un brote de parotiditis, y de los enfermos 88% habían sido vacunados. El gen SH del virus de parotiditis es variable y ha permitido clasificar las cepas virales conocidas en 12 genotipos. Los virus que ocasionaron los brotes de 2006 y 2009 en Estados Unidos se identificaron como parte del genotipo G. Una epidemia masiva de parotiditis tuvo lugar en el año 2004 en el Reino Unido que ocasionó más de 56 000 casos; también intervinieron virus del genotipo G muy similares.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento específico.

La inmunización con el virus de la parotiditis vivo atenuado es el mejor método para reducir las tasas de morbilidad y mortalidad por parotiditis. Los esfuerzos por reducir al mínimo la diseminación del virus durante un brote epidémico mediante procedimientos de aislamiento, son fútiles dada la frecuencia alta de casos asintomáticos y el grado de eliminación del virus antes que aparezcan los síntomas clínicos; sin embargo, los estudiantes y personal médico que adquieren parotiditis deben retirarse de la escuela y del trabajo hasta cinco días después que comienza la parotiditis.

En 1967 se autorizó en Estados Unidos una vacuna de virus vivos atenuados eficaz elaborada en cultivo de células de embrión de pollo. Produce una infección asintomática no transmisible. La vacuna de la parotiditis está disponible en combinación con las vacunas de virus vivos del sarampión y la rubéola (MMR). Las vacunas combinadas de virus vivos producen anticuerpos contra cada uno de los virus en casi 78 a 95% de las vacunas. No hay un incremento del riesgo de meningitis aséptica después de la vacunación con virus vivos del sarampión y la rubéola. En Japón, Rusia y Suiza se han desarrollado otras vacunas de virus vivos atenuados de la parotiditis.

Se recomiendan dos dosis de la vacuna de MMR para el ingreso escolar. Dado el brote de parotiditis en 2006, se dieron a conocer nuevas recomendaciones de vacunación para evitar la transmisión de parotiditis en ámbitos de alto riesgo para la propagación de la infección. Se deben administrar dos dosis de vacuna al personal de salud nacido antes de 1957 que no tenga indicios de inmunidad contra la parotiditis, y se debe considerar una segunda dosis de la vacuna para quienes hayan recibido una sola dosis.

INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL SARAMPIÓN (RUBÉOLA)

El sarampión es una enfermedad aguda muy contagiosa caracterizada por fiebre, síntomas respiratorios y un exantema maculopapuloso. Las complicaciones son frecuentes y pueden ser muy graves. La introducción de una vacuna de virus vivos eficaz ha

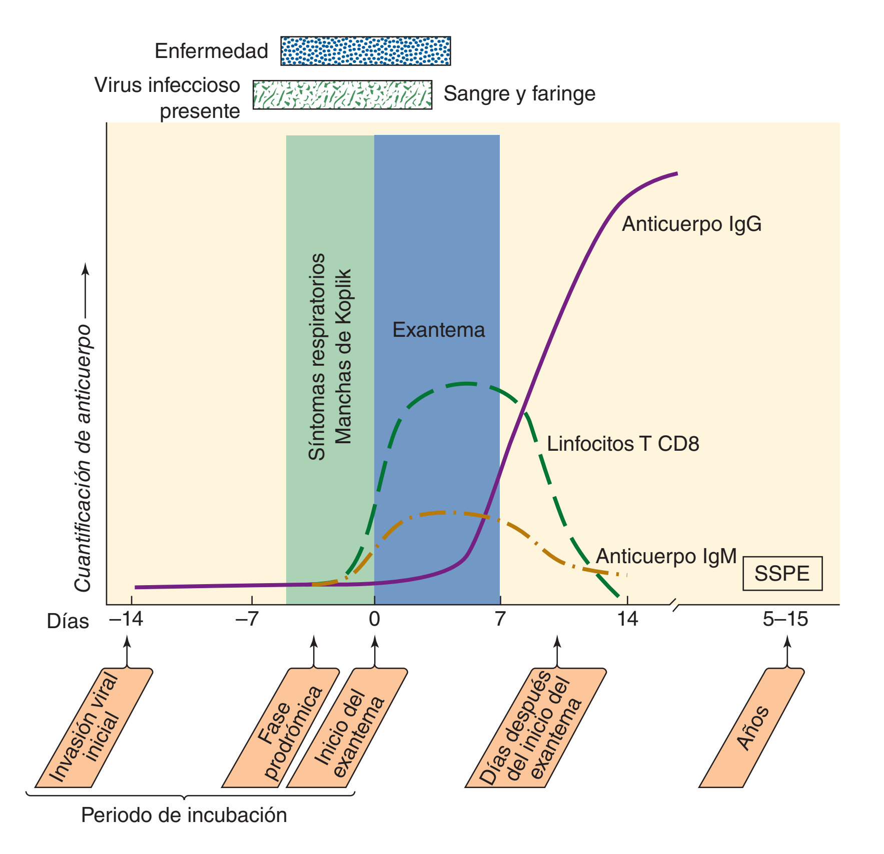


FIGURA 40-7 Evolución natural de la infección por el virus del sarampión. La replicación viral comienza en el epitelio respiratorio y se disemina a monocitos-macrófagos, células endoteliales y células epiteliales en sangre, bazo, ganglios linfáticos, pulmón, timo, hígado y piel, y a las superficies mucosas de los aparatos digestivo, respiratorio y genitourinario. La respuesta inmunitaria específica contra el virus es detectable cuando aparece el exantema. La eliminación del virus coincide aproximadamente con la desaparición del exantema. IgG, inmunoglobulina G; IgM, inmunoglobulina M; SSPE, panencefalitis esclerosante subaguda.

reducido en forma drástica la frecuencia de esta enfermedad en Estados Unidos, pero el sarampión sigue siendo una causa principal de muerte en preescolares en muchos países en vías de desarrollo.

Patogenia y anatomía patológica

El ser humano es el único hospedador natural del virus del sarampión, aunque se pueden infectar en condiciones experimentales otras especies, como monos, perros y ratones. En la figura 40-7 se muestra la evolución natural de la infección del sarampión.

El virus logra acceso al cuerpo humano por el aparato respiratorio, donde se multiplica en los tejidos locales; la infección se propaga luego al tejido linfoide regional donde ocurre una multiplicación adicional. La viremia primaria disemina el virus, que luego se replica en el sistema reticuloendotelial. Por último, una segunda viremia siembra las superficies epiteliales del cuerpo, lo que comprende piel, aparato respiratorio y conjuntiva, donde ocurre la replicación focal. El sarampión se puede replicar en determinados linfocitos, lo cual ayuda a la diseminación por todo el cuerpo. Las células gigantes multinucleadas con inclusiones intranucleares se observan en los tejidos linfoides de todo el organismo (ganglios linfáticos, amígdalas, apéndice). Los fenómenos descritos se presentan durante el periodo de incubación, el cual suele durar ocho a 15 días pero puede persistir hasta tres semanas en los adultos.

Los pacientes son contagiosos durante la fase prodrómica (dos a cuatro días) y los primeros dos a cinco días del exantema, cuando el virus está presente en lágrimas, secreciones nasales y faríngeas, orina y sangre. El exantema maculopapuloso característico aparece alrededor del día 14, precisamente cuando comienzan a ser detectables los anticuerpos circulantes, desaparece la viremia y desciende la fiebre. El exantema sobreviene a consecuencia de la interacción de los linfocitos T inmunes con las células infectadas por el virus en los vasos sanguíneos pequeños y dura alrededor de una semana. (En pacientes con inmunidad celular defectuosa, no sobreviene ningún exantema.)

La afectación del sistema nervioso central es frecuente en el sarampión (figura 40-8). Se presenta una encefalitis sintomática en casi 1:1 000 casos. Puesto que el virus infeccioso pocas veces se aísla del cerebro, se ha señalado que una reacción autoinmunitaria es el mecanismo que interviene en esta complicación. En cambio, la encefalitis progresiva por cuerpos de inclusión asociados a sarampión puede presentarse en pacientes con inmunidad celular defectuosa. El virus con replicación activa está presente en el cerebro en esta forma de la enfermedad por lo general letal.

Una complicación tardía infrecuente del sarampión es la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE, *subacute sclerosing panencephalitis*). Esta enfermedad letal se presenta años después de la infección por el sarampión inicial y es causada por el virus que permanece en el cuerpo después de la infección aguda. Grandes cantidades de antígenos del sarampión están presentes en los cuerpos de inclusión en las células cerebrales infectadas, pero sólo algunas partículas virales maduran. La replicación viral es defectuosa debido a la falta de producción de uno o más productos génicos virales, a menudo la proteína de la matriz.

Manifestaciones clínicas

Las infecciones en hospedadores no inmunes casi siempre son sintomáticas. El sarampión tiene un periodo de incubación de ocho a 15 días desde la exposición hasta el inicio de la erupción.

La fase prodrómica se caracteriza por fiebre, estornudos, tos, rinorrea, hiperemia conjuntival, manchas de Koplik y linfopenia. La tos y la coriza reflejan una reacción inflamatoria intensa que afecta a la mucosa del aparato respiratorio. La conjuntivitis suele acompañarse de fotofobia. Las manchas de Koplik (patognomónicas del sarampión) son pequeñas ulceraciones de color blanco azulado en la mucosa bucal opuesta a los molares inferiores. Estas manchas contienen células gigantes y antígenos virales y aparecen unos dos días después del exantema. La fiebre y la tos persisten hasta que el exantema aparece y luego desaparecen al cabo de uno a dos días. El exantema, que comienza en la cabeza y luego se extiende en forma progresiva al tórax, el tronco y las extremidades, aparece como maculopápulas de color de rosa claro, bien circunscritas, que experimentan coalescencia y forman ronchas, las cuales se vuelven parduscas en un lapso de cinco a 10 días. El exantema que desvanece se resuelve con descamación. Los síntomas son más intensos cuando el exantema alcanza su máxima expresión, pero ceden con rapidez poco después.

El sarampión modificado ocurre en personas parcialmente inmunes, como los lactantes con anticuerpo materno residual. El periodo de incubación es prolongado, los síntomas

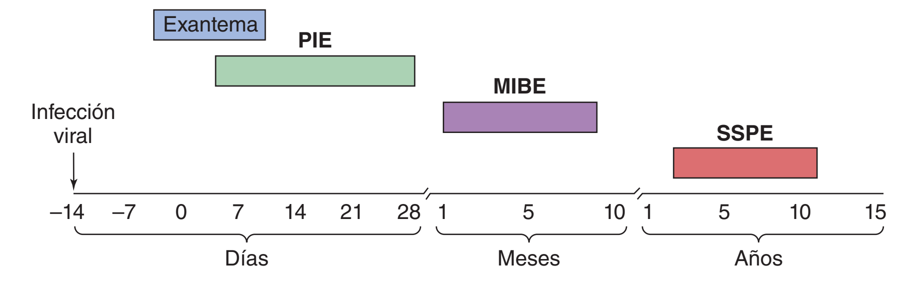


FIGURA 40-8 Sucesión cronológica de las complicaciones neurológicas del sarampión. En tanto que la encefalitis aparece con una frecuencia de un paciente por 1 000 casos de sarampión, la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE) es una complicación rara que se identifica con una frecuencia de un paciente por 300 000 casos. MIBE, encefalitis por cuerpos de inclusión asociados a sarampión; PIE, encefalomielitis posinfecciosa (llamada también encefalomielitis diseminada aguda). (Adaptada con autorización de Griffin DE, Bellini WJ: Measles virus. En Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors in chief]. *Fields Virology*, 3a. ed. Lippincott-Raven, 1996.)

prodrómicos se reducen, las manchas de Koplik no suelen presentarse y el exantema es leve.

La complicación más frecuente del sarampión es la otitis media (5 a 9% de los casos).

La neumonía es la complicación letal más frecuente del sarampión, causada por infecciones bacterianas secundarias. Esto ocurre en menos del 10% de los casos en países desarrollados, pero es mucho más frecuente (20 a 80%) en países en vías de desarrollo. Las complicaciones pulmonares constituyen más de 90% de los decesos relacionados con el sarampión. La neumonía viral aparece en 3 a 15% de adultos con sarampión, si bien son raras las muertes bajo esta circunstancia.

La neumonía de células gigantes es una complicación importante en los niños y en los adultos con deficiencia de la inmunidad celular. Se piensa que se debe a una replicación viral irrestricta y tiene una tasa alta de mortalidad.

Las complicaciones que afectan el sistema nervioso central son las más graves. Alrededor del 50% de los niños con sarampión regular muestran cambios electroencefalográficos. La encefalitis aguda se presenta en casi 1:1 000 casos. No existe ninguna correlación evidente entre la gravedad del sarampión y la aparición de las complicaciones neurológicas. La encefalomielitis posinfecciosa (encefalitis diseminada aguda) es una enfermedad autoinmunitaria asociada a una respuesta inmunitaria a la proteína básica de mielina. La tasa de mortalidad en la encefalitis relacionada con el sarampión es de casi 10 a 20%. La mayoría de los sobrevivientes tienen secuelas neurológicas.

La **SSPE**, la complicación tardía infrecuente de la infección por sarampión, tiene una incidencia de 1:10 000 a 1:100 000 casos. La enfermedad comienza de manera gradual cinco a 15 años después de un caso de sarampión; se caracteriza por deterioro mental progresivo, movimientos involuntarios, rigidez muscular y estado de coma. Suele ser letal al cabo de uno a tres años después del inicio. Los pacientes con SSPE muestran cuantificaciones altas de anticuerpo del sarampión en el líquido cefalorraquídeo y virus del sarampión defectuoso en las células del cerebro. Con el empleo generalizado de la vacuna del sarampión, se ha vuelto menos frecuente la SSPE.

Inmunidad

Sólo hay un tipo antigénico del virus del sarampión (cuadro 40-2). La infección confiere inmunidad de por vida. La mayor parte de los llamados segundos ataques representan errores de diagnóstico, sea de la inicial o de la segunda enfermedades.

La presentación de anticuerpos humorales indica inmunidad. La inmunidad protectora se atribuye a los anticuerpos neutralizantes contra la proteína H. Sin embargo, la inmunidad celular al parecer es esencial para el restablecimiento y la protección. Los pacientes con deficiencias de inmunoglobulinas se restablecen del sarampión y adquieren resistencia a la reinfección, en tanto que las personas con deficiencias en la inmunidad celular tienen una evolución muy precaria cuando adquieren las infecciones del sarampión. La participación de la inmunidad de la mucosa en la resistencia a las infecciones no está clara.

Las respuestas inmunitarias del sarampión intervienen en la patogenia de la enfermedad. La inflamación local produce los síntomas prodrómicos y la inmunidad específica mediada por células es importante para la aparición del exantema.

La infección por el sarampión ocasiona una supresión inmunitaria (muy importante en la porción mediada por células del sistema inmunitario, pero se observa que afecta a todos los componentes). Esta es la causa de las infecciones secundarias graves y puede persistir meses después de la infección por el sarampión.

Diagnóstico de laboratorio

El sarampión característico se diagnostica de manera fiable con los datos clínicos; el diagnóstico de laboratorio puede ser necesario en los casos de sarampión modificado o atípico.

A. Detección de antígeno y ácido nucleico

Los antígenos de sarampión pueden detectarse en forma directa en células epiteliales de secreciones respiratorias, nasofaringe, conjuntivas y orina. Los anticuerpos contra la nucleoproteína son útiles porque es la proteína viral más abundante en las células infectadas.

La detección de RNA viral mediante RT-PCR es un método sensible que se puede aplicar a diversas muestras clínicas para el diagnóstico del sarampión.

B. Aislamiento e identificación del virus

Los frotis de secreciones nasofaríngeas y conjuntivales, las muestras de sangre, las secreciones respiratorias y la orina obtenidas de un paciente durante el periodo febril, son fuentes apropiadas para el aislamiento del virus. Las células de riñón de mono o ser humano, o una línea de células linfoblastoides (B95-a), son óptimas para los intentos de aislamiento. El virus del sarampión crece con lentitud; los efectos citopáticos característicos (células gigantes multinucleadas que contienen cuerpos de inclusión intranuclear e intracitoplásmica) tardan siete a 10 días en desarrollarse (figura 40-5). Las pruebas mediante el método de centrifugación y cultivo pueden finalizarse en dos a tres días si se utiliza la tinción de anticuerpo fluorescente para detectar antígenos de sarampión en los cultivos inoculados. Sin embargo, el aislamiento del virus es técnicamente difícil.

C. Diagnóstico serológico

La confirmación serológica de la infección por el sarampión depende de un incremento de cuatro tantos en la cuantificación de anticuerpos entre los sueros de fase aguda y de fase convaleciente o de la demostración de anticuerpo de IgM específico de sarampión en una sola muestra de suero obtenida entre una y dos semanas después del inicio del exantema. Las pruebas ELISA, HI y la neutralización permiten determinar anticuerpos del sarampión, aunque ELISA es el método más práctico.

Las manchas de sangre desecada y los líquidos orales al parecer son útiles alternativas al suero para la detección de anticuerpo del sarampión en zonas donde es difícil la obtención y manejo de muestras de suero.

La mayor parte de la respuesta inmunitaria está dirigida contra la nucleoproteína viral. Los pacientes con SSPE muestran una respuesta de anticuerpo exagerada con cuantificaciones de 10 a 100 tantos más altas que las observadas en los sueros de la etapa convaleciente típica.

Epidemiología

Las características epidemiológicas clave del sarampión son: contagiosidad alta del virus, existencia de un solo serotipo, no hay un reservorio animal, las infecciones asintomáticas son infrecuentes y la infección confiere una inmunidad de por vida. La prevalencia y la incidencia del sarampión por edades están relacionadas con la densidad de la población, factores económicos y ambientales y el empleo de una vacuna de virus vivos eficaz.

La transmisión ocurre de manera predominante por la vía respiratoria (por la inhalación de grandes gotitas de secreciones infectadas). Los fómites al parecer no son importantes para la transmisión. La transmisión transplacentaria hematógena puede ocurrir cuando el sarampión se presenta durante el embarazo.

Una cantidad continua de individuos susceptibles es necesaria para que el virus persista en una población. Se necesita una población que se acerque a los 500 000 individuos para mantener el sarampión como una enfermedad endémica; en las poblaciones más pequeñas, el virus desaparece hasta que es reintroducido desde el exterior después que se acumula un número crítico de personas no inmunes.

El sarampión es endémico en todo el mundo. En general, las epidemias reaparecen con regularidad cada dos a tres años. Un estado de inmunidad de la población es el factor determinante; la enfermedad se exacerbará cuando haya una acumulación de niños susceptibles. La gravedad de una epidemia depende del número de individuos susceptibles. Cuando se introduce la enfermedad en poblaciones aisladas donde no ha sido endémica, una epidemia se produce con rapidez y las tasas son de casi 100%. Todos los grupos de edad desarrollan sarampión clínico y la tasa de mortalidad puede ser de hasta 25 por ciento.

En los países industrializados, el sarampión ocurre en niños de cinco a 10 años de edad, en tanto que en los países en vías de desarrollo suelen infectarse los niños menores de cinco años. El sarampión pocas veces produce la muerte en personas sanas de países desarrollados; sin embargo, en los niños desnutridos de países en vías de desarrollo, donde no se dispone de atención médica adecuada, es una causa principal de mortalidad en los lactantes; las personas con trastornos inmunológicos, como las infecciones avanzadas por virus de inmunodeficiencia humana, están en riesgo de presentar sarampión grave o letal. La Organización Mundial de la Salud estimó en 2005 que había 30 a 40 millones de casos de sarampión y 530 000 decesos cada año en todo el mundo. El sarampión es la quinta causa global principal de mortalidad en niños menores de cinco años de edad y las muertes por sarampión ocurren en forma desproporcionada en África y el sureste de Asia.

La Organización Mundial de la Salud y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia establecieron un plan en 2005 para reducir la mortalidad del sarampión mediante actividades de inmunización y mejor atención clínica de los casos. Se estima que entre 2000 y 2008 el número de casos de sarampión y de muertes por sarampión se redujo 75 por ciento.

Los casos de sarampión ocurren durante todo el año en climas templados. Las epidemias tienden a presentarse a finales del invierno y a principios de la primavera.

En Estados Unidos hubo 540 casos de sarampión de 1997 a 2001, de los cuales 67% estuvieron vinculados con importaciones (personas infectadas fuera de Estados Unidos). Durante un periodo de ocho años (1996-2004), 117 pasajeros con casos de sarampión importados se consideraron infecciosos mientras viajaban en aeronaves. Pese a la índole tan infecciosa del virus, sólo se identificaron cuatro casos de propagación secundaria.

En Estados Unidos, en el año 2000 se declaró la erradicación del sarampión. Sin embargo, casos importados han ocasionado múltiples brotes, en particular en comunidades donde la vacunación contra el sarampión dejó de realizarse. En general, el sarampión causa 50 a 100 casos al año, pero en 2014 se notificaron más de 600 casos, con 23 brotes. Para seguir eliminando la transmisión de sarampión, las tasas de vacunación deben rebasar 90%. Dado que la primera dosis de vacuna se da a los 12 a 15 meses, los lactantes con menos de un año tienen riesgo particular de complicaciones graves en comunidades con poca vacunación antisarampionosa.

Tratamiento, prevención y control

El tratamiento con vitamina A ha disminuido la mortalidad y la morbilidad en países en vías de desarrollo. El virus del sarampión es susceptible *in vitro* a la inhibición por la ribavirina, pero no se han demostrado los beneficios clínicos.

Desde 1963 se ha contado con una vacuna del virus vivo del sarampión atenuado que es muy eficaz y tolerable. Está disponible en formas monovalente y combinada con la vacuna de la rubéola de virus vivos atenuados (MR), vacuna de la rubéola de virus vivos atenuados y del sarampión (MMR) y vacuna de la varicela de virus vivos atenuados (MMRV). Las vacunas contra el sarampión se obtienen de la cepa Edmonston de virus y protegen contra todos los virus naturales del sarampión. Sin embargo, ante el hecho de que no se vacuna a todos los niños y el surgimiento de casos excepcionales de ineficacia de la vacuna, no se ha podido eliminar del todo al sarampión a nivel mundial, aunque sí se le ha erradicado en Estados Unidos.

Las reacciones clínicas leves (fiebre o exantema leve) se presentan en 2 a 5% de los vacunados, pero no hay expresión del virus o ésta es escasa y no hay ninguna transmisión. La inmunodepresión ocurre al igual que con el sarampión, pero es transitoria y no tiene importancia clínica. Las cuantificaciones de anticuerpos tienden a ser menores que después de la infección natural, pero los estudios han demostrado que los anticuerpos activados por la vacuna persisten hasta 33 años, lo que indica que la inmunidad probablemente es de por vida.

Se recomienda que todos los niños, personal de atención de la salud y viajeros internacionales sean vacunados. Las contraindicaciones para la vacunación comprenden embarazo, alergia a los huevos o a la neomicina, alteraciones inmunitarias (excepto las debidas a infección por el virus de inmunodeficiencia humana) y la administración reciente de inmunoglobulina.

El empleo de la vacuna del virus del sarampión muerto se suspendió en 1970, ya que algunas personas vacunadas se sensibilizaron y presentaron sarampión atípico grave cuando se infectaron con el virus natural.

La cuarentena no es eficaz como medida de control, ya que la transmisión del sarampión ocurre durante la fase prodrómica.

Peste bovina (rinderpest)

La peste bovina, la enfermedad más devastadora de bovinos, es causada por el virus de igual nombre (Rinderpest), pariente del virus de sarampión. En el año 2010 se declaró que estaba erradicada del planeta la peste bovina, después de un intento global fructífero que inició en 1994. Constituyó la primera zoonosis (y la segunda enfermedad en la historia humana después de la viruela) que fue erradicada a nivel mundial. Ello se logró gracias a programas de vacunación amplios y la vigilancia permanente del ganado y especies de vida salvaje.

INFECCIONES POR VIRUS HENDRA Y VIRUS NIPAH

Dos paramixovirus zoonóticos que representan un nuevo género (Henipavirus) fueron reconocidos a finales de la década de 1990 en brotes epidémicos de la enfermedad en Oceanía (cuadro 40-2). Un brote epidémico de encefalitis grave en Malasia en 1998 y 1999 fue causado por el virus de Nipah. Hubo una alta tasa de mortalidad (> 35%) entre más de 250 casos; algunos sobrevivientes tenían disfunciones neurológicas persistentes. Al parecer las infecciones fueron causadas por la transmisión viral directa de cerdos a seres humanos. Algunos pacientes (< 10%) pueden padecer encefalitis de instauración tardía meses a varios años después de la infección inicial por el virus de Nipah.

El virus de Hendra, un virus equino, ha causado muchos decesos de caballos y algunas muertes humanas en Australia. Un brote en equinos en el 2008 ocasionó dos casos en seres humanos de encefalitis del virus Hendra, y uno de ellos fue letal. La tasa de ataque entre personal de clínicas veterinarias expuesto a caballos infectados fue de 10 por ciento.

Los murciélagos de la fruta son los hospedadores naturales de los virus de Nipah y de Hendra. Los cambios ecológicos, incluido el uso de la tierra y las prácticas de ganadería, tal vez son la causa del surgimiento de estas dos enfermedades infecciosas.

Los dos virus constituyen un problema de salud pública debido a su mortalidad alta, amplia variedad de hospedadores y la capacidad para saltarse de barreras de especie. Son clasificados como microorganismos patógenos de bioseguridad de nivel 4. No se dispone de tratamiento o vacunas.

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA RUBÉOLA (SARAMPIÓN ALEMÁN)

La rubéola (sarampión alemán; sarampión de tres días) es una enfermedad febril aguda que se caracteriza por un exantema y linfadenopatía que afecta a los niños y a los adultos jóvenes. Es el más leve de los exantemas virales frecuentes. Sin embargo, la infección durante las primeras etapas del embarazo puede producir anomalías importantes del feto, lo que comprende malformaciones congénitas y retraso mental. Las consecuencias de la rubéola *in utero* se designan como el síndrome de rubéola congénita.

Clasificación

El virus de la rubéola, integrante de la familia **Togaviridae**, es el único miembro del género *Rubivirus.* Aunque sus características morfológicas y propiedades fisicoquímicas lo ubican en el grupo de los togavirus, la rubéola no es transmitida por artrópodos. En el capítulo 38 se describe la estructura y la replicación del togavirus.

Hay una diversidad importante de secuencias entre las cepas de virus de la rubéola. En la actualidad se clasifican en dos grupos lejanamente relacionados y nueve genotipos.

Por claridad en la presentación se describen por separado la rubéola posnatal y la rubéola congénita.

RUBÉOLA POSNATAL

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones neonatales, infantiles y del adulto se presentan en toda la mucosa de las vías respiratorias altas. La rubéola tiene un periodo de incubación de cerca de 12 días o más. Es probable que la replicación viral inicial ocurra en el aparato respiratorio, seguida de la proliferación en los ganglios linfáticos cervicales. La viremia sobreviene después de siete a nueve días y persiste hasta la aparición de anticuerpo alrededor de los días 13 a 15. La aparición de anticuerpo coincide con la aparición del exantema, lo que indica una causa inmunitaria del exantema. Después que aparece el exantema, el virus se mantiene detectable sólo en la nasofaringe, donde puede persistir durante varias semanas (figura 40-9). En 20 a 50% de los casos, la infección primaria es asintomática.

Manifestaciones clínicas

La rubéola suele comenzar con malestar general, febrícula y un exantema morbiliforme que aparece el mismo día. El exantema comienza en la cara, se extiende sobre el tronco y las extremidades y pocas veces persiste más de tres días. Ninguna característica del exantema es patognomónica de la rubéola. A menos que ocurra una epidemia, la enfermedad es difícil de diagnosticar clínicamente, pues el exantema causado por otros virus (p. ej., enterovirus) es similar.

Suele observarse artralgia y artritis transitorias en los adultos, sobre todo en las mujeres. Pese a determinadas similitudes, la artritis por la rubéola no tiene una relación etiológica con la artritis reumatoide. Las complicaciones infrecuentes son púrpura trombocitopénica y encefalitis.

Inmunidad

Los anticuerpos contra la rubéola aparecen en el suero de los pacientes a medida que cede el exantema y la cuantificación de anticuerpos aumenta con rapidez en las siguientes una a tres semanas. Gran parte de los anticuerpos iniciales consisten en IgM, que por lo general no persisten más de seis semanas después de la enfermedad. Los anticuerpos IgM contra la rubéola que se detectan en una sola muestra de suero obtenida dos semanas después del exantema son indicio de rubéola reciente. Los anticuerpos IgG contra la rubéola suelen persistir de por vida.

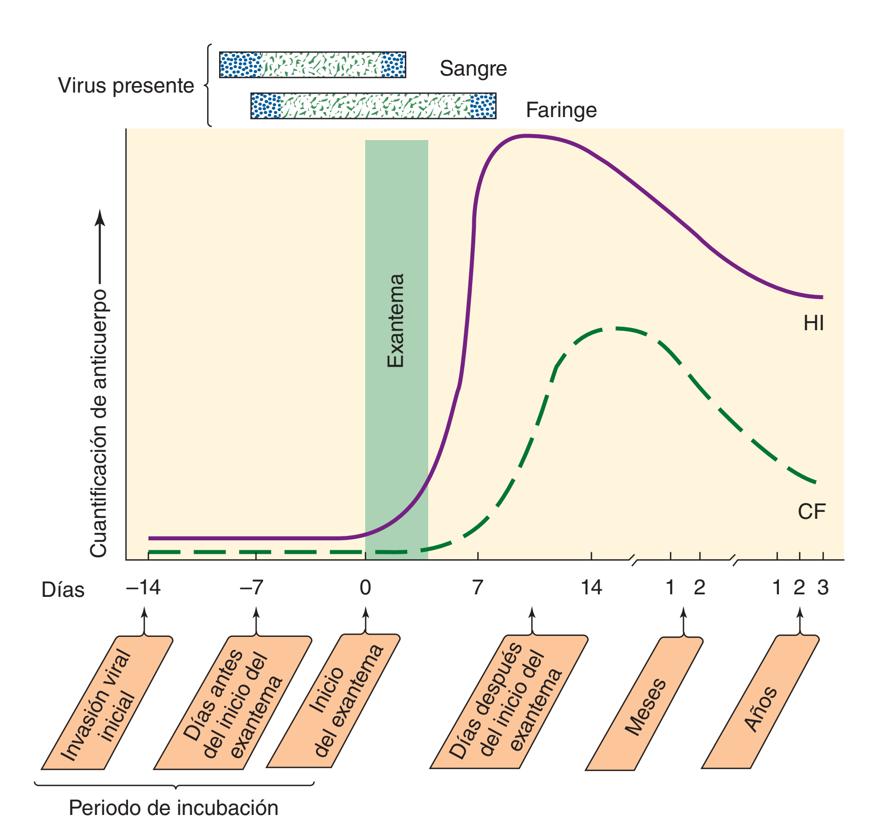


FIGURA 40-9 Evolución natural de la infección primaria por el virus de la rubéola: producción de virus y respuesta de anticuerpos. CF, fijación de complemento; HI, inhibición de la hemaglutinación.

Un ataque de la enfermedad confiere inmunidad de por vida, ya que sólo existe un tipo antigénico del virus. Debido a la naturaleza no descrita del exantema, un antecedente de "rubéola" no es un índice fiable de inmunidad. Las madres inmunes transfieren los anticuerpos a sus hijos, quienes luego quedan protegidos durante cuatro a seis meses.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico de rubéola no es fiable, pues muchas infecciones virales producen síntomas similares a los de la rubéola. Determinados diagnósticos se establecen con estudios de laboratorio específicos (aislamiento del virus, detección del RNA viral o datos de seroconversión).

A. Detección de ácido nucleico

Se puede utilizar RT-PCR para detectar ácido nucleico del virus de la rubéola directamente en muestras clínicas o en cultivos celulares utilizados para el aislamiento del virus. La tipificación molecular permite identificar subtipos y genotipos de virus y es útil en los estudios de vigilancia. Los frotis faríngeos son muestras apropiadas para la tipificación molecular.

B. Aislamiento e identificación del virus

Los frotis nasofaríngeos o faríngeos obtenidos seis días antes y después del inicio del exantema son una buena fuente del virus de la rubéola. Se pueden utilizar diversos linajes celulares de origen en el mono o en el conejo. La rubéola produce un efecto citopático bastante insignificante en casi todos los linajes celulares. Si se utilizan células cultivadas a través del método de centrifugación y cultivo, se pueden detectar antígenos virales mediante inmunofluorescencia tres a cuatro días después de la inoculación.

C. Diagnóstico serológico

La prueba HI es una prueba serológica estándar para la rubéola. Sin embargo, el suero debe tratarse previamente para eliminar los inhibidores inespecíficos antes de las pruebas. Se prefieren las pruebas de ELISA porque no es necesario el tratamiento preliminar del suero si se pueden adaptar para detectar IgM específica.

La detección de IgG es signo de inmunidad, ya que sólo hay un serotipo de virus de la rubéola. Para confirmar con exactitud una rubéola reciente (lo cual es muy importante en el caso de una embarazada), se debe demostrar un aumento de la cuantificación del anticuerpo entre dos muestras de suero obtenidas a un intervalo mínimo de 10 días o bien IgM específica de la rubéola en un solo espécimen.

Epidemiología

La rubéola tiene una distribución mundial. La infección se presenta durante todo el año con una incidencia máxima durante la primavera. Las epidemias ocurren cada seis a 10 años y las pandemias explosivas cada 20 a 25 años. La infección es transmitida por la vía respiratoria, pero la rubéola no es tan contagiosa como el sarampión.

En el periodo de 1962 a 1965 se presentó una epidemia mundial de rubéola. Hubo más de 12 millones de casos en Estados Unidos, lo que produjo 2 000 casos de encefalitis, más de 11 000 decesos fetales, 2 000 muertes neonatales y 20 000 lactantes nacidos con el síndrome de la rubéola congénita. La repercusión económica de esta epidemia en Estados Unidos se estimó en 1 500 millones de dólares. El empleo de la vacuna contra la rubéola eliminó tanto la rubéola epidémica como la endémica en Estados Unidos hacia el año 2005. Se está llevando

a cabo un programa para eliminar también la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en Centroamérica y Sudamérica.

Tratamiento, prevención y control

La rubéola es una enfermedad leve que cede en forma espontánea y en la que no hay indicaciones para un tratamiento específico.

La rubéola demostrada mediante análisis de laboratorio durante los primeros tres a cuatro meses del embarazo casi siempre se acompaña de infección fetal. La inmunoglobulina intravenosa (IGIV) inyectada a la madre no protege al feto contra la rubéola porque no se suele administrar en una etapa lo suficientemente temprana para evitar la viremia.

Desde 1969 están disponibles las vacunas del virus de la rubéola vivos atenuados. La vacuna se comercializa como un antígeno simple o en combinación con la vacuna del sarampión y de la parotiditis. El principal propósito de la vacunación contra la rubéola es evitar las infecciones por rubéola congénita. El virus de la vacuna se multiplica en el organismo y es eliminado en pequeñas cantidades pero no se disemina a los contactos. Los niños vacunados no plantean ningún riesgo para las madres susceptibles ni para las embarazadas. En cambio, los niños no inmunizados pueden llevar a su hogar el virus natural y propagarlo a contactos familiares susceptibles. La vacuna induce inmunidad de por vida en al menos 95% de los receptores.

La vacuna es tolerable y produce pocos efectos secundarios en los niños. En los adultos, los únicos efectos secundarios notables son la artralgia transitoria y la artritis en casi una cuarta parte de las mujeres vacunadas.

La inmunización en Estados Unidos redujo la frecuencia de rubéola de casi 70 000 casos en 1969, a menos de 10 en 2004, casos que ocurrieron predominantemente en personas nacidas fuera de Estados Unidos. El virus se declaró después erradicado de Estados Unidos. Los estudios de rentabilidad tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo han demostrado que las ventajas de la vacunación contra la rubéola superan los costos.

SÍNDROME DE RUBÉOLA CONGÉNITA

Patogenia y anatomía patológica

La viremia materna relacionada con la infección por rubéola durante el embarazo puede dar por resultado infección de la placenta y el feto. Sólo un número limitado de células fetales se infecta. La tasa de crecimiento de las células infectadas se reduce y esto redunda en una menor cantidad de células en los órganos afectados al nacer. La infección puede desencadenar alteraciones e hipoplasia en el desarrollo de los órganos y desencadenar anomalías estructurales en el recién nacido.

El periodo en el que ocurre la infección fetal determina la magnitud del efecto teratógeno. En general, cuanto más temprana sea la etapa del embarazo en la que ocurre la infección, tanto mayor será la lesión fetal. La infección durante el primer trimestre del embarazo produce anomalías en el lactante en casi 85% de los casos, en tanto que se detectan defectos en casi 16% de los lactantes que adquirieron la infección durante el segundo trimestre. Los defectos congénitos son infrecuentes si ocurre infección materna después de la vigésima semana de la gestación.

Las infecciones maternas no manifiestas pueden producir asimismo estas anomalías. La rubéola también puede producir la muerte fetal y aborto espontáneo.

La infección intrauterina con rubéola conlleva la persistencia crónica del virus en el recién nacido. Al nacer, el virus es fácil de detectar en las secreciones faríngeas, múltiples órganos, líquido cefalorraquídeo, orina y frotis rectales. La excreción viral puede durar 12 a 18 meses después del nacimiento, pero el grado de eliminación por lo general disminuye con la edad.

Manifestaciones clínicas

El virus de la rubéola se ha aislado en muchos órganos y tipos de células diferentes en lactantes infectados *in utero* y también la lesión provocada por la rubéola es generalizada.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de rubéola congénita pueden agruparse en tres amplias categorías: 1) efectos transitorios en los lactantes, 2) manifestaciones permanentes que pueden ser ostensibles al nacer o que se reconocen durante el primer año y 3) anomalías del desarrollo que aparecen y evolucionan durante la infancia y la adolescencia.

La tríada característica de la rubéola congénita consiste en cataratas, anomalías cardiacas e hipoacusia. Los lactantes también manifiestan síntomas transitorios de retraso del crecimiento, exantema, hepatoesplenomegalia, ictericia y meningoencefalitis.

La infección del sistema nervioso central es más global. La manifestación del desarrollo más frecuente en la rubéola congénita es el retraso mental moderado a profundo. En los niños preescolares se presentan problemas de equilibrio y de las habilidades motoras. Algunos lactantes con afectación grave pueden necesitar hospitalización.

La panencefalitis progresiva por la rubéola es una complicación infrecuente que se presenta en el segundo decenio de vida en niños con rubéola congénita y consiste en un agravamiento neurológico que inevitablemente evoluciona hasta el fallecimiento.

Inmunidad

En condiciones normales, el anticuerpo materno contra la rubéola en la forma IgG es transmitido a los lactantes y gradualmente se pierde durante un periodo de seis meses. La demostración de anticuerpos de la rubéola de la clase IgM en los lactantes es diagnóstica de la rubéola congénita. Puesto que los anticuerpos de IgM no cruzan la placenta, su presencia indica que debe haberlos sintetizado el lactante *in utero*. Los niños con rubéola congénita muestran alteraciones de la inmunidad celular que son específicas del virus de la rubéola.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento específico para la rubéola congénita. Puede evitarse mediante la inmunización infantil con la vacuna de la rubéola para garantizar que las mujeres en edad reproductiva sean inmunes.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los paramixovirus son una gran familia; seis géneros contienen los patógenos humanos. Estos incluyen virus de parainfluenza, virus sincitial respiratorio y metaneumovirus humano (enfermedades respiratorias), así como virus de sarampión y parotiditis, y los virus Hendra y Nipah (encefalitis zoonótica).
- Los paramixovirus son virus de RNA con cubierta y un genoma no segmentado de sentido negativo. Todos son antigénicamente estables.
- Los paramixovirus son transmitidos por contacto o por grandes gotas, y desencadenan infecciones en el aparato respiratorio.
- Dentro del citoplasma celular se produce todo el ciclo de replicación viral de los paramixovirus.
- El virus sincitial respiratorio es la causa más importante de enfermedades de las vías respiratorias bajas en lactantes y niños pequeños. La bronquiolitis o la neumonía grave aparecen más a menudo en niños de seis semanas a seis meses de vida. Los ancianos también son susceptibles.
- Los metaneumovirus humanos son patógenos de vías respiratorias de lactantes y preescolares, individuos inmunodeprimidos y ancianos. La enfermedad se asemeja a la causada por el virus sincitial respiratorio.
- Los virus de parainfluenza causan enfermedades de vías respiratorias en todas las edades; las más graves se producen en lactantes y niños pequeños.
- Los métodos preferidos de diagnóstico de las infecciones virales del aparato respiratorio son la detección de RNA o los antígenos virales.
- Está aprobado el uso de ribavirina para tratar la enfermedad por virus sincitial respiratorio en lactantes.
- Las reinfecciones son frecuentes en el caso de los virus del aparato respiratorio.
- La parotiditis es una enfermedad sistémica y cerca de la mitad de las infecciones ocasiona infección de las glándulas salivales. Muchas infecciones son asintomáticas.
- El sarampión es una infección diseminada muy infecciosa que se caracteriza por exantemas. A veces surgen complicaciones graves como neumonía y encefalitis. Son excepcionales las infecciones asintomáticas.
- Existen serotipos únicos de virus de sarampión y de parotiditis. La infección confiere inmunidad de por vida.
- No se cuenta con vacunas contra los virus de parainfluenza, virus sincitial respiratorio o metaneumovirus humano. Hay vacunas eficaces contra sarampión y parotiditis.
- Los virus Hendra y Nipah son paramixovirus de animales que pueden infectar al ser humano; ocasionan encefalitis con una tasa alta de mortalidad. No se cuenta con tratamiento alguno.
- La rubéola (sarampión alemán) se clasifica como un togavirus, pero no es transmitida por artrópodos; es el más leve de los exantemas virales comunes.
- La infección por rubéola durante el comienzo del embarazo ocasiona a veces lesiones graves del feto, incluida la muerte fetal. Los niños que nacen con rubéola congénita pueden tener diversos problemas físicos y anomalías del desarrollo.
- Se cuenta con una vacuna contra la rubéola. La rubéola congénita se evita con la vacunación en la niñez, de tal forma que las mujeres queden inmunes al llegar a la edad reproductiva.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un niño de cuatro años de edad presenta una enfermedad febril aguda. Su pediatra le diagnostica parotiditis. El órgano que más a menudo muestra signos de parotiditis es
   (A) Pulmones
   (B) Ovarios
   (C) Glándulas parótidas
   (D) Piel
   (E) Testículos
2. Los paramixovirus comprenden las causas más importantes de infecciones respiratorias en lactantes y en niños pequeños. ¿Cuál de las siguientes no es una característica de los paramixovirus?
   (A) El genoma es RNA de cadena de sentido negativo
   (B) La envoltura contiene una glucoproteína con actividad de fusión
   (C) Los paramixovirus no experimentan reagrupamiento genético
   (D) El ciclo de replicación se presenta en el citoplasma de células susceptibles
   (E) El genoma es segmentado
3. Un lactante de dos meses de edad presentó una enfermedad respiratoria que el pediatra diagnosticó como bronquiolitis. La causa más probable de la enfermedad es
   (A) Virus de parainfluenza tipo 4
   (B) Virus sincitial respiratorio
   (C) Virus de la gripe
   (D) Metapnemovirus
   (E) Virus del sarampión
4. Varios paramixovirus pueden causar neumonía en los lactantes o en los niños. ¿Para cuál de los siguientes paramixovirus se dispone de una vacuna eficaz que evitaría la neumonía?
   (A) Virus de parainfluenza tipo 1
   (B) Virus del sarampión
   (C) Virus sincitial respiratorio
   (D) Virus de la parotiditis
   (E) Metaneumovirus
5. Una mujer de 27 años de edad que tiene dos meses de embarazo presenta fiebre, malestar general y artralgia. Aparece un exantema maculopapuloso fino en la cara, tronco y extremidades. Se diagnostica rubéola y existe la preocupación de que el feto se infecte y esto dé como resultado un síndrome de rubéola congénita. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a dicho síndrome es correcta?
   (A) La enfermedad se puede evitar mediante la vacunación de niños de edad escolar con vacuna contra el sarampión
   (B) Las anomalías congénitas se presentan cuando una embarazada no inmune es infectada en cualquier momento durante el embarazo
   (C) La hipoacusia es un defecto frecuente que se presenta en el síndrome de rubéola congénita
   (D) Sólo cepas raras del virus de la rubéola son teratógenas
   (E) Ninguna de las anteriores
6. Un niño de cinco años de edad presenta febrícula, coriza, conjuntivitis y manchas de Koplik. El médico puede llegar a la conclusión de que

(A) El niño probablemente no se ha vacunado satisfactoriamente con la vacuna MMR
(B) La madre embarazada del niño corre el riesgo de infectarse y de que su hijo no nacido tenga anomalías congénitas, lo que comprende retraso mental
(C) Se presentará un exantema en la cara del niño y durará sólo dos a tres días
(D) El tratamiento del niño con el fármaco antiviral ribavirina debe iniciarse de inmediato para reducir al mínimo la posibilidad de que se presente encefalitis aguda

7. Los virus de parainfluenza son ubicuos y producen enfermedades respiratorias en personas de todas las edades. Sin embargo, las reinfecciones con los virus de parainfluenza son frecuentes debido a que
(A) Hay muchos tipos antigénicos de virus de parainfluenza y la exposición a nuevas cepas produce nuevas infecciones
(B) Las infecciones del aparato respiratorio no desencadenan una respuesta inmunitaria generalizada
(C) Ocurre una replicación limitada del virus que no logra estimular la producción de anticuerpos
(D) El anticuerpo IgA secretor en la nariz tiene una vida corta y desaparece algunos meses después de la infección

8. Un niño de 20 meses tuvo una enfermedad caracterizada por fiebre, irritabilidad, conjuntivitis y un exantema de color rojo de ladrillo al principio en la cara, pero luego se diseminó hacia abajo y hacia afuera. A los nueve años de edad el niño tuvo instauración gradual de deterioro neurológico grave generalizado. Se le diagnosticó panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE). ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre el SSPE es correcta?
(A) El virus defectuoso de la varicela-zóster se presenta en las células del cerebro
(B) Se detectan altas cuantificaciones de anticuerpos contra el sarampión en el líquido cefalorraquídeo
(C) La frecuencia de la enfermedad va en aumento desde el advenimiento de la vacuna de la parotiditis, sarampión y rubéola (MMR)
(D) Hay un deterioro progresivo rápido de la función cerebral
(E) La enfermedad es una complicación tardía e infrecuente de la rubéola

9. ¿Cuál de los siguientes paramixovirus tiene una glucoproteína de superficie HN que carece de la actividad de hemaglutinina?
(A) Virus del sarampión
(B) Virus de la parotiditis
(C) Virus de parainfluenza de tipo 1
(D) Virus sincitial respiratorio
(E) Virus de la rubéola

10. Una niña de tres años de edad presenta una infección viral respiratoria aguda que exige hospitalización. Se valora el tratamiento con ribavirina. ¿Para el tratamiento de cuál de las siguientes situaciones está autorizada la ribavirina?
(A) Enfermedad de las vías respiratorias bajas causada por virus sincitial respiratorio en lactantes
(B) Síndrome de rubéola congénita
(C) Meningitis aséptica debida a infección por el virus de la parotiditis
(D) Neumonía causada por el virus del sarampión en los adultos
(E) Encefalitis relacionada con el virus de Nipah
(F) Todas las anteriores

11. Los análisis de RT-PRC ayudan al diagnóstico de las infecciones por paramixovirus. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la RT-PCR no son correctas?
(A) Análisis más sensible que el aislamiento del virus
(B) Permite identificar cepas de virus
(C) Análisis más rápido que la detección de antígeno
(D) Permite obtener datos sobre la variación genética para los estudios de epidemiología molecular
(E) Análisis más específico para los virus de parainfluenza que el estudio serológico

12. Las siguientes aseveraciones respecto de la vacuna contra el sarampión son correctas, *excepto*
(A) La vacuna contiene virus vivos atenuados.
(B) La vacuna no debe aplicarse al mismo tiempo que la de parotiditis porque el sistema inmunitario no reacciona a los dos antígenos virales aplicados en el mismo periodo.
(C) El virus de la vacuna contiene sólo un serotipo.
(D) Es importante no aplicar la vacuna antes de los 15 meses de edad porque los anticuerpos maternos impiden que se produzca una respuesta inmunitaria.

13. Las siguientes aseveraciones respecto de la rubéola son correctas, *excepto*
(A) Las anomalías congénitas aparecen de manera predominante cuando la embarazada se infecta en el primer trimestre.
(B) Las mujeres que afirman no haber padecido rubéola, pueden, a pesar de ello, tener anticuerpos neutralizantes en el suero.
(C) En un niño de seis años, la rubéola es una enfermedad leve que se resuelve en forma espontánea con pocas complicaciones.
(D) El aciclovir es eficaz para tratar el síndrome de rubéola congénita.

14. Las siguientes aseveraciones en cuanto a la vacuna contra la rubéola son correctas, *excepto*
(A) La vacuna evita la reinfección y con ello limita la propagación de partículas virulentas.
(B) El inmunógeno en la vacuna es el virus muerto de la rubéola.
(C) La vacuna induce anticuerpos que evitan la diseminación del virus al neutralizarlo durante la etapa virémica.
(D) La incidencia de sarampión infantil y el síndrome congénito ha disminuido mucho desde que se contó con una vacuna.

15. Las siguientes aseveraciones respecto de la parotiditis son correctas, *excepto*
(A) El virus de parotiditis es un paramixovirus y por ello tiene un genoma de RNA monocatenario.
(B) La meningitis es una complicación reconocida de la parotiditis.
(C) La orquitis parotidítica en niños antes de la pubertad suele ocasionar esterilidad.
(D) Durante la parotiditis, el virus se disemina por la corriente sanguínea (viremia) a diversos órganos internos.

16. Las siguientes aseveraciones respecto de la panencefalitis esclerosante subaguda son correctas, *excepto*
(A) La inmunodepresión es un factor predisponente frecuente.
(B) En las células infectadas se identifican agregados de nucleocápsides helicoidales.
(C) En el líquido cefalorraquídeo se identifican anticuerpos contra el sarampión en gran concentración.
(D) Se produce deterioro progresivo y lento de la función cerebral.

17. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál es la *mejor* prueba para basar el diagnóstico decisivo de un cuadro agudo de parotiditis?
(A) Prueba cutánea positiva
(B) Incremento cuádruple de la concentración de anticuerpos contra el antígeno de la parotiditis
(C) Antecedente de exposición a un niño con parotiditis
(D) Orquitis en un adulto joven

18. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones respecto de la parotiditis es *correcta*?
    (A) Si bien las glándulas salivales son el sitio más evidente de infección, también puede haber afectación de testículos, ovarios y páncreas.
    (B) No se cuenta con una vacuna contra la parotiditis y por ello la inmunización pasiva es la única forma de evitar la enfermedad.
    (C) El diagnóstico de parotiditis se hace sobre bases clínicas, porque es imposible la proliferación del virus en cultivo celular y son inexactas las pruebas serológicas.
    (D) A veces surgen segundos episodios de parotiditis porque hay dos serotipos del virus y la protección muestra especificidad de un solo serotipo.
19. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más probable que sea cierta en cuanto al sarampión y no a la rubéola (sarampión alemán)?
    (A) Aparecen las manchas de Koplik.
    (B) Ocasiona defectos congénitos.
    (C) Ocasiona sólo enfermedad leve.
    (D) Los seres humanos constituyen los únicos hospedadores naturales.
    (E) Se cuenta con la vacuna hecha de virus atenuado como prevención.

Respuestas

1. C	6. A	11. C	16. A
2. E	7. D	12. B	17. B
3. B	8. B	13. D	18. A
4. B	9. D	14. B	19. A
5. C	10. A	15. C	

BIBLIOGRAFÍA

Calisher CH, Holmes KV, Domínguez SR, *et al.*: Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. *Microbe* 2008;3:521.

Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, *et al.*: Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. *Nat Med* 2009;15:34.

Eaton BT, Broder CC, Middleton D, Wang LF: Hendra and Nipah viruses: Different and dangerous. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:23.

Ginocchio CC, McAdam AJ: Current best practices for respiratory virus testing. *J Clin Microbiol* 2011;49:S44.

Henrickson KJ: Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:242.

Lamb RA, Parks GD: Paramyxoviridae: The viruses and their replication. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief) *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.

Measles vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:349.

Mumps virus vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2007;82:51.

Papenburg J, Boivin G: The distinguishing features of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. *Rev Med Virol* 2010;20:245.

Rubella vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2011;86:301.

Schildgen V, Van den Hoogen B, Fouchier R, *et al.*: Human metapneumovirus: lessons learned over the first decade. *Clin Microbiol Rev* 2011;24:734.

Tregoning JS, Schwarze J: Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:74.

CAPÍTULO

41

Coronavirus

Los coronavirus son virus de RNA de gran tamaño con envoltura. Los coronavirus de seres humanos ocasionan el resfriado común, pueden originar infecciones de la parte inferior del aparato respiratorio y se ha dicho que participan en la gastroenteritis de lactantes. Se han identificado coronavirus nuevos como la causa del síndrome respiratorio agudo grave (SARS) y del síndrome respiratorio del Cercano Oriente (MERS, *Middle East respiratory syndrome*). Los coronavirus producen enfermedades de importancia económica en los animales domésticos; en animales silvestres, establecen infecciones persistentes en sus hospedadores naturales. Los virus humanos son difíciles de cultivar y, por lo tanto, tienen una caracterización más deficiente.

PROPIEDADES

En el cuadro 41-1, se enumeran propiedades importantes de los coronavirus.

Estructura y composición

Los coronavirus son partículas de 120 a 160 nm, con envoltura, que contienen un genoma no segmentado de RNA monocatenario de polaridad positiva (27 a 32 kb), el genoma más grande entre los virus de RNA. Los genomas son poliadenilados en el extremo 3′. El RNA genómico aislado es infeccioso. La nucleocápside helicoidal tiene un diámetro de 9 a 11 nm. En la superficie externa de la envoltura hay proyecciones ampliamente espaciadas en forma de palo de golf o de pétalo de 20 nm de longitud, que simulan una corona solar (figura 41-1). Las proteínas estructurales del virus comprenden una proteína de la nucleocápside (N) fosforilada de 50 a 60 kDa, una glucoproteína de membrana (M) de 20 a 35 kDa que sirve de proteína de matriz embebida en la doble capa de lípido de la envoltura y que interacciona con la nucleocápside, y la glucoproteína de espiga (S; 180 a 220 kDa) que constituye los peplómeros en forma de pétalo. Algunos virus, incluido el coronavirus humano OC43 (HCoV-OC43), contienen una tercera glucoproteína (HE; 65 kDa) que causa hemaglutinación y tiene una actividad de acetilesterasa.

En la figura 41-2, se muestran las organizaciones del genoma de los coronavirus representativos. El orden de los genes para las proteínas codificadas por todos los coronavirus es Pol-S-E-M-N-3′. El número y el orden de genes en los coronavirus varían con los marcos de lectura abiertos que codifican proteínas no estructurales y la proteína HE. En comparación, el virus del SARS contiene un número grande de genes interpuestos para las proteínas no estructurales en el extremo 3′ del genoma.

Clasificación

La familia Coronaviridae, junto con la familia Arteriviridae, es una de las dos familias dentro del orden Nidovirales. Las características que se utilizan para clasificar a los virus de la familia Coronaviridae son las características morfológicas de la partícula, la estrategia singular de replicación de RNA, la organización del genoma y la homología de secuencia del nucleótido. Se conocen dos subfamilias (Coronavirinae y Torovirinae) y seis géneros (*Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus, Deltacoronavirus, Bafinivirus* y *Torovirus*) en la familia Coronaviridae. Los primeros dos géneros y el último contienen virus que infectan seres humanos. Los torovirus se encuentran ampliamente en ungulados y al parecer ocasionan enfermedad diarreica.

Se conocen seis coronavirus que infectan a los seres humanos y son los de tipo α 229E y NL63, y los de tipo β OC43, HKU1, SARS-CoV y MERS-CoV. Se han identificado muchos coronavirus que infectan animales, pero casi todos sólo producen infección en una o pocas especies.

Replicación de coronavirus

Puesto que los coronavirus humanos no se multiplican bien en cultivo celular, los detalles de la replicación viral se han descubierto en estudios con virus de la hepatitis del ratón, que está íntimamente relacionado con la cepa humana o C43 (figura 41-3). El ciclo de replicación ocurre en el citoplasma de las células.

El virus se adhiere a los receptores en sus destinos celulares mediante las espigas de glucoproteínas presentes en la envoltura viral (sea mediante S o HE). El receptor para el coronavirus humano 229E es una aminopeptidasa N en tanto un receptor funcional para el virus del SARS es la enzima convertidora de angiotensina tipo 2. El receptor de MERS-CoV es la dipeptil peptidasa 4 también conocida como CD26. Múltiples isoformas de la familia de las glucoproteínas relacionadas con el antígeno carcinoembrionario sirven de receptores para el coronavirus del ratón. La partícula luego se interioriza, probablemente mediante endocitosis con absorción. La glucoproteína S puede causar fusión de la envoltura viral con la membrana celular.

CUADRO 41-1 Propiedades importantes de los coronavirus

Virión: esférico, 120 a 160 nm de diámetro, nucleocápside helicoidal
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad positiva, de 27 a 32 kb, incorporado en la cápside y poliadenilado, infeccioso
Proteínas: dos glucoproteínas y una fosfoproteína. Algunos virus contienen una tercera glucoproteína (hemaglutinina esterasa)
Envoltura: contiene grandes espigas ampliamente espaciadas, en forma de palo de golf o pétalo
Replicación: citoplasma; las partículas maduran por gemación en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi
Características sobresalientes: Producen resfriados comunes, SARS y MERS Muestran una gran frecuencia de recombinación Multiplicación difícil en cultivo celular

SARS, síndrome respiratorio agudo grave; MERS, síndrome respiratorio del Cercano Oriente.

El primer evento después de la desenvoltura es la traducción del RNA genómico viral para producir una RNA polimerasa dependiente de RNA específico del virus. La polimerasa viral transcribe un RNA complementario de longitud completa (cadena negativa) que sirve de plantilla para una serie anidada de cinco a siete RNA mensajeros (mRNA, *messenger RNA*) subgenómicos. Sólo se traduce la secuencia del gen de 5′-terminal de cada mRNA. Las copias de RNA genómico de longitud completa también se transcriben del RNA complementario.

Las moléculas de RNA genómico recién sintetizadas interactúan en el citoplasma con la proteína de la nucleocápside para formar nucleocápsides helicoidales. Hay un lugar de fijación preferido para la proteína N dentro del RNA directriz. Las nucleocápsides experimentan gemación a través de las membranas del retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi en zonas que contienen las glucoproteínas virales. Los viriones maduros luego se transportan en vesículas a la periferia celular para su salida o pueden liberarse luego de citólisis.

Los viriones al parecer no se forman por la gemación en la membrana plasmática. Puede verse un gran número de partículas en el exterior de las células infectadas y supuestamente se adsorben a la misma después de la liberación del virión. Determinados coronavirus desencadenan la fusión celular, la cual es mediada por la glucoproteína S y necesita un pH de 6.5 o mayor. Algunos coronavirus establecen infecciones persistentes en las células en vez de ser lisadas.

Los coronavirus muestran gran cantidad de mutaciones durante cada ronda de replicación, incluidas numerosas mutaciones por deleción. Los coronavirus experimentan recombinación muy frecuente durante la replicación; esto es poco común para un virus de RNA con un genoma sin segmentación y puede contribuir a la evolución de nuevas cepas de virus.



FIGURA 41-1 Coronavirus humano OC43. Obsérvense las espigas grandes características, ampliamente espaciadas, que forman una "corona" alrededor del virión (297 000x) (cortesía de F. A. Murphy y E. L. Palmer.)

INFECCIONES POR CORONAVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia

Los coronavirus tienden a presentar una alta especificidad para especie. La mayor parte de los coronavirus conocidos en animales muestra un tropismo para las células epiteliales del aparato respiratorio o del tubo digestivo. Las infecciones por coronavirus *in vivo* pueden diseminarse, al igual que con el virus de la hepatitis del ratón, o mantenerse circunscritas. Las infecciones por coronavirus en el ser humano casi siempre permanecen limitadas, aunque no siempre, a las vías respiratorias altas.

En cambio, el brote del SARS-CoV en 2003 se caracterizó por originar una neumopatía grave, que comprendía neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. El virus también se puede detectar en otros órganos, como riñón, hígado e intestino delgado, lo mismo que en las heces. El virus del SARS quizá se originó en un hospedador no humano, muy posiblemente murciélagos, se amplificó en la civeta de las palmeras y se transmitió a las personas en los mercados de animales vivos. Los murciélagos de herradura chinos son reservorios naturales de coronavirus similares al del SARS. En regiones rurales del sur de China, donde comenzó el brote epidémico, las personas, los cerdos y las aves domésticas viven juntos y hay un uso generalizado de especies silvestres para alimentación y medicina tradicional (condiciones que favorecen el surgimiento de nuevas cepas virales).

El brote por MERS-CoV que comenzó en el 2012 también se caracterizó por neumonía e insuficiencia respiratoria, si bien muchos enfermos que fallecieron tenían otras entidades patológicas médicas. Es posible que MERS-CoV hubiera provenido de murciélagos y se propagó a camellos como lo demostró la seropositividad en animales de la región; también es factible que el contacto con uno u otro tipo de animales originara

SARS-CoV

5′ L ORF1a ORF1b S 3b 3a E M 6 7a 8a N 7b 8b 9b

FIGURA 41-2 Organización genómica de los coronavirus. El genoma del coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV) tiene, en promedio, 29.7 kb. Los cuadrados de color amarillo representan marcos de lectura abiertos (ORF, *open reading frames*) que codifican proteínas estructurales; los cuadrados de color violeta codifican proteínas no estructurales. Los ORF separados dentro de cada gen se han "traducido" desde especies únicas de mRNA. S, "pico"; E, cubierta; M, trasmembrana; N, nucleocápside. Los productos de desdoblamiento de ORF1 han recibido los nombres de nsp1-16 e incluyen una fosfatasa, proteinasas de cisteína, una RNA polimerasa que depende de RNA, una helicasa y una endorribonucleasa. (Adaptada con autorización de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. En Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.)

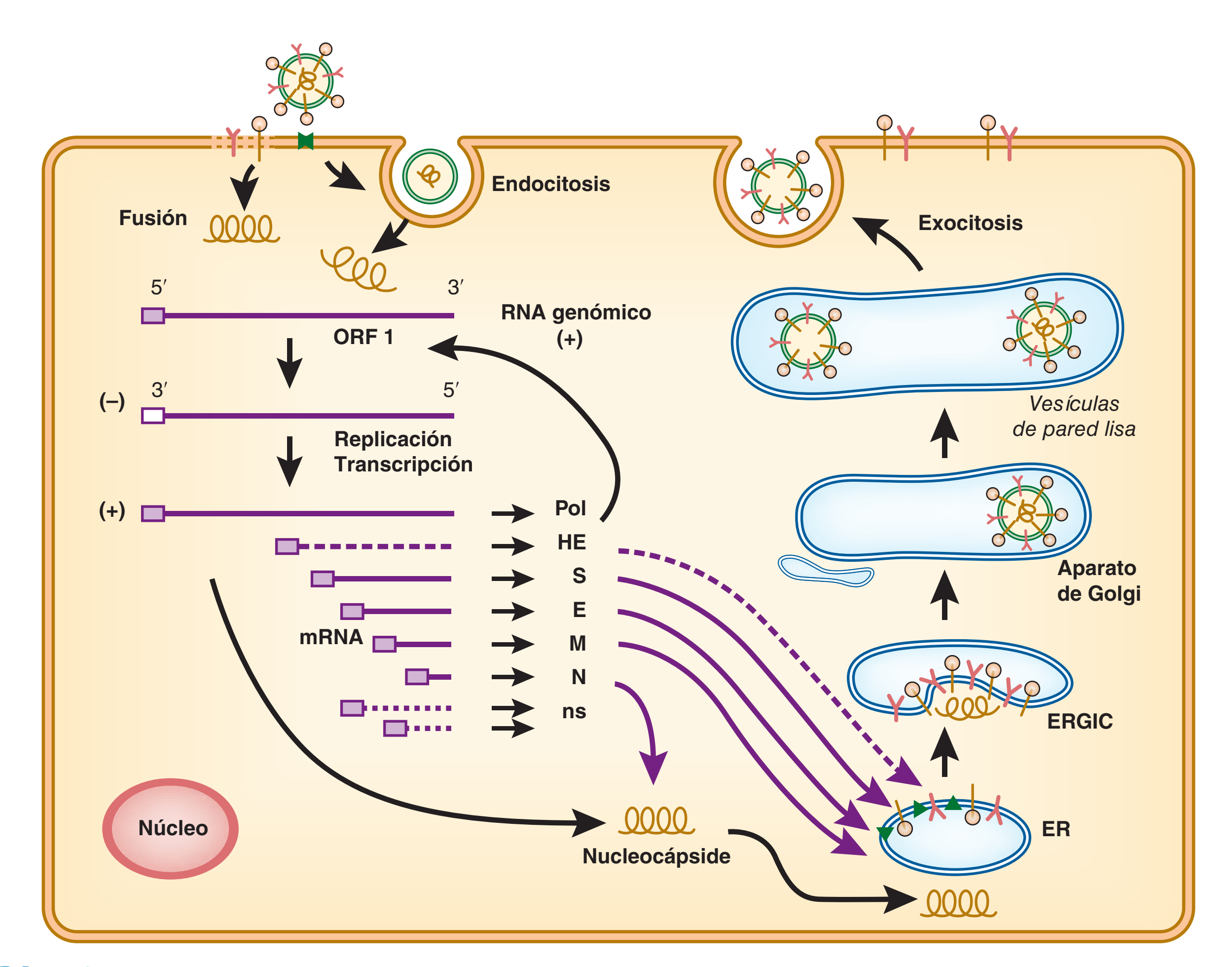


FIGURA 41-3 Ciclo de replicación del coronavirus. Los viriones se unen a glucoproteínas de receptor específico o a glucanos a través de la proteína de espiga. La penetración y la desenvoltura tienen lugar por la fusión, mediada por la proteína S, de la envoltura viral con la membrana plasmática o las membranas endosómicas. El gen 1 del RNA genómico viral se traduce en una poliproteína, la cual se procesa para generar el complejo transcriptasa-replicasa. Se utiliza el RNA genómico como un templete para sintetizar RNA de tira negativa, que se usa para sintetizar RNA genómico de longitud completa y mRNA subgenómico. Cada mRNA se traduce para generar sólo la proteína codificada por el 5′-terminal del mRNA, lo cual comprende las proteínas no estructurales. La proteína N y el RNA genómico recién sintetizado se ensamblan para formar nucleocápsides helicoidales. La glucoproteína M de la membrana se injerta en el retículo endoplásmico (ER) y se ancla en el aparato de Golgi. La nucleocápside (N más RNA genómico) se une a la proteína N en el compartimento de gemación (compartimento intermedio del aparato de Golgi-retículo endoplásmico [ERGIC, *endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment*]). Las proteínas E y M interactúan para desencadenar la gemación de viriones y encerrar la nucleocápside. Las glucoproteínas S y HE se glucosilan y trimerizan, asociadas a la proteína M y se incorporan a las partículas virales en maduración. Los viriones se liberan gracias la fusión de vesículas con la membrana plasmática de una manera parecida a la exocitosis. Los viriones pueden mantenerse adsorbidos en las membranas plasmáticas de las células infectadas. Todo el ciclo de replicación del coronavirus transcurre en el citoplasma. (Reproducida con autorización de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. En Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*. 5a. ed. Lippincott Williams y Wilkins, 2007.)

las primeras infecciones en seres humanos y, a partir de ese momento, se transmitieran de una persona a otra.

Se sospecha que los coronavirus causan algunas gastroenteritis en el ser humano. Hay varios modelos animales para los coronavirus entéricos, como el virus de la gastroenteritis transmisible porcina (TGEV, *transmissible gastroenteritis virus*). La enfermedad se presenta en animales jóvenes y se caracteriza por la destrucción de la célula epitelial y la pérdida de la capacidad de absorción. En la década de 1980, apareció en Europa un nuevo coronavirus respiratorio porcino (PRCV, *porcine respiratory coronavirus*) y produjo epizootias generalizadas en los cerdos. El análisis de la secuencia demostró que el PRCV se derivaba del TGEV mediante una gran deleción en la glucoproteína S1.

Manifestaciones clínicas

Los coronavirus humanos producen "resfriados comunes", por lo general afebriles, en adultos. Los síntomas son similares a los que generan los rinovirus, que se caracterizan por secreción nasal y ataque al estado general. El periodo de incubación es de dos a cinco días y los síntomas suelen persistir alrededor de una semana. Raras veces resultan afectadas las vías respiratorias bajas, aunque puede aparecer neumonía. Los niños asmáticos pueden presentar episodios de sibilancias y los síntomas respiratorios quizá se exacerben en adultos con alguna neumopatía crónica. El SARS-CoV ocasiona enfermedad respiratoria grave. El periodo de incubación promedia los seis días. Los primeros síntomas frecuentes son fiebre, ataque al estado general, escalofríos, cefalea, somnolencia, tos y faringitis, seguida de disnea algunos días después. Muchos pacientes tienen radiografías torácicas anormales. Algunos casos evolucionan con rapidez a la insuficiencia respiratoria aguda que requiere apoyo con ventilación mecánica. La muerte por insuficiencia respiratoria progresiva tiene lugar en casi 10% de los casos y la mortalidad es más alta en ancianos. El SARS comprende la llamada "tormenta de citocinas" en la que aumentan de manera desproporcionada las concentraciones de múltiples quimiocinas y citocinas en la circulación periférica durante unas dos semanas.

El MERS-CoV origina un trastorno respiratorio leve o grave en niños y adultos. Los pacientes que tienen otras enfermedades intercurrentes muestran afección más grave como los ancianos. El periodo de incubación es de 2 a 13 días y las enfermedades "extendidas" en algunos casos culminan en neumonía y muerte. Los datos de laboratorio incluyen leucopenia, linfopenia, trombocitopenia y concentraciones aumentadas de lactato deshidrogenasa. Se ha dicho que la mortalidad llega a 30%, pero tal vez sea un estimación excesiva porque los casos poco intensos casi nunca se notifican.

No se han descrito con claridad las manifestaciones clínicas de la enteritis relacionada con coronavirus. Al parecer son similares a las de las infecciones por rotavirus.

Inmunidad

Al igual que con otros virus respiratorios, sobreviene inmunidad pero no es absoluta. La inmunidad contra el antígeno de proyección de superficie probablemente es muy importante para la protección. La resistencia a la reinfección puede durar varios años, pero son frecuentes las reinfecciones por cepas similares.

La mayoría de los pacientes (> 95%) con SARS o MERS presenta una respuesta de anticuerpo a antígenos virales que es detectable mediante una prueba de anticuerpo fluorescente o bien enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme–linked immunosorbent assay*).

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección de antígeno y ácido nucleico

Los antígenos de coronavirus presentes en las células de secreciones respiratorias pueden detectarse utilizando la prueba de ELISA si se dispone de un antisuero de gran calidad. Se pueden encontrar coronavirus entéricos con el análisis de muestras de heces en el microscopio electrónico. Se prefieren los métodos de la reacción en cadena de polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para buscar el ácido nucleico del coronavirus en secreciones respiratorias y muestras de heces. La viremia con los coronavirus SARS y MERS se detecta en el plasma por medio de PCR.

B. Aislamiento e identificación del virus

El aislamiento de los coronavirus humanos en cultivo celular ha sido difícil. Sin embargo, el virus del SARS se aisló de muestras de la bucofaringe con la utilización de células renales de mono Vero.

C. Diagnóstico serológico

Dada la dificultad del aislamiento del virus, el diagnóstico serológico utilizando sueros en etapa aguda y convaleciente es el medio práctico de confirmar las infecciones por coronavirus para propósitos epidemiológicos. Es posible llevar a cabo un enzimoinmunoanálisis de adsorción, métodos indirectos de anticuerpos inmunofluorescentes, y estudios de hemaglutinación. El diagnóstico serológico de las infecciones por la cepa 229E es factible al usar una prueba de hemaglutinación pasiva en la cual los sueros que contienen anticuerpo aglutinan los eritrocitos cubiertos con antígeno de coronavirus.

Epidemiología

Los coronavirus tienen una distribución mundial; son una causa importante de enfermedad respiratoria en adultos durante algunos meses de invierno cuando es alta la frecuencia de resfriados comunes, pero es inusual el aislamiento de rinovirus u otros virus respiratorios; tienden a relacionarse con brotes epidémicos bien definidos.

Se estima que los coronavirus producen 15 a 30% de todos los resfriados comunes. La frecuencia de infecciones por coronavirus es muy variable de un año a otro, con fluctuación de 1 a 35% en un estudio de tres años.

Los anticuerpos contra los coronavirus respiratorios aparecen en la infancia, su prevalencia aumenta con la edad y se encuentran en más de 90% de los adultos. Al parecer la reinfección con síntomas puede presentarse tras un periodo de un año. Sin embargo, pocas veces se identifican anticuerpos contra coronavirus del SARS y el MERS, lo cual demuestra que no ha circulado ampliamente entre seres humanos.

Los coronavirus suelen relacionarse con neumopatías agudas en personas de edad avanzada, junto con los rinovirus y los virus de la gripe (influenza) y sincitial respiratorio. Se estima que la frecuencia de infección por coronavirus es de casi la mitad que la originada por rinovirus y es equivalente a la de estos dos últimos virus.

Los coronavirus se transmiten por contacto con gotitas provenientes de vías respiratorias, superficies contaminadas y fómites (objetos inanimados contaminados). Existe el riesgo de transmisión en el medio de atención de la salud y se sabe de brotes nosocomiales corroborados.

El brote del SARS surgió en el sur de China a finales de 2002 y, para el tiempo en que desapareció a mediados de 2003, había producido más de 8 000 casos en 29 países, con más de 800 muertes (mortalidad de casos de 9.6%). En casi todos los pacientes había un antecedente de contacto cercano con un sujeto con SARS o un viaje reciente a una zona donde se había notificado este síndrome. Los viajes aéreos internacionales permitieron la propagación del SARS en todo el mundo con una rapidez sin precedente. La experiencia con dicho síndrome ilustró que en un mundo globalizado, un brote de una enfermedad infecciosa en cualquier lugar hace que todo país quede en riesgo.

Es interesante que algunas personas con SARS fuesen identificadas como "superpropagadoras"; cada una de ellas al parecer había infectado a más de 10 contactos. Se han descrito superpropagadores para otras enfermedades como rubéola, virosis por Ébola y tuberculosis, y esto quizá refleje una determinada gama de factores relacionados con el hospedador, los virus y el ambiente.

En 2012, se identificó al coronavirus MERS como la causa de la insuficiencia respiratoria que provocó el fallecimiento de un paciente en Arabia Saudita. Más tarde se precisó que era la fuente de los múltiples brotes de neumopatías en varios países en la Península Arábica. Al parecer el virus es endémico en murciélagos y camellos de tales regiones. Los viajeros infectados propagan el virus en otros países y esto constituye un riesgo de transmisión de los peregrinos que vuelven del viaje al Hajj anual en la Mecca.

Se sabe muy poco de las características epidemiológicas de las infecciones intestinales por coronavirus.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento demostrado contra las infecciones por coronavirus, ni de vacuna alguna. Los inhibidores de proteasa utilizados en el tratamiento de infecciones por el VIH (como el lopinavir) muestran actividad *in vitro* contra el coronavirus del SARS. Las vacunas contra este último y MERS están en fase de desarrollo.

Las medidas de erradicación eficaces para evitar la propagación del SARS han incluido aislar pacientes, someter a cuarentena a quienes estuvieron expuestos y restricciones en cuanto a viajes, así como uso de guantes, batas, visores y respiradores por parte del personal de atención de la salud. Subsiste una fuerte sospecha del contagio de MERS-CoV en personas que retornan de la Península Arábica, lo cual obliga a la práctica de pruebas apropiadas y precauciones para erradicar la infección y así impedir su propagación ulterior.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los coronavirus son partículas con cubierta y contienen un genoma de RNA en sentido positivo y monocatenario, que es el de mayor tamaño entre todos los virus RNA.
- Los coronavirus tienden a mostrar gran especificidad de especie.
- Sin embargo, un nuevo coronavirus proveniente de un hospedador no humano ocasionó un brote mundial del SARS en 2003.
- El MERS-CoV se detectó por primera vez en 2012 y en algunos pacientes ocasiona neumopatía grave.
- Los coronavirus se distribuyen a escala mundial, con la excepción de los virus del SARS y el MERS.
- No se conoce tratamiento probado ni vacuna contra coronavirus.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 63 años de edad presenta fiebre, cefalea, malestar, mialgias y tos. Es el inicio de la temporada invernal de los virus respiratorios y el médico de la paciente no sabe cuáles de ellos están presentes en la población. ¿Cuál de los siguientes virus no son una causa de enfermedad respiratoria aguda?
   (A) Virus de la gripe
   (B) Adenovirus
   (C) Virus sincitial respiratorio
   (D) Coronavirus
   (E) Rotavirus
2. Con base en el análisis de secuencia y en las pruebas serológicas, ¿cuál de los siguientes es el origen más probable de los coronavirus que producen SARS?
   (A) Recombinación entre un coronavirus humano y uno animal que creó un nuevo virus.
   (B) Salto de un coronavirus animal al ser humano.
   (C) Mutación de un coronavirus humano que produjo un aumento de la virulencia.
   (D) Adquisición de genes celulares humanos por un coronavirus humano a través de la recombinación que permitió la evasión de la respuesta inmunitaria del huésped por el virus.
3. La epidemia del SARS por coronavirus en 2002 a 2003 provocó muchos casos y muertes. ¿Cuál es la vía principal de transmisión de los coronavirus humanos?
   (A) Fecal-oral
   (B) Respiratoria
   (C) Sangre
   (D) Perinatal de madre a lactante
   (E) Actividad sexual
4. Las infecciones por coronavirus en el ser humano suelen producir un síndrome de resfriado común. Sin embargo, un brote epidémico reciente del SARS se caracterizó por neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. La prevención o el tratamiento de estas enfermedades se puede lograr mediante
   (A) Una vacuna de subunidad
   (B) Una vacuna de virus vivos atenuados adaptados al frío
   (C) El fármaco viral amantadina
   (D) Medidas del control de la infección, que comprenden aislamiento y uso de prendas protectoras.
   (E) El fármaco antiviral aciclovir
5. Una epidemia de infecciones virales respiratorias agudas ocurrió en residentes de edad avanzada de un asilo. Se sospechan

los virus de la gripe y los coronavirus, que pueden causar enfermedad respiratoria grave en los ancianos. ¿Cuál de las siguientes características comparten estos virus?

(A) Genoma segmentado
(B) Genoma de RNA infeccioso
(C) Alta frecuencia de recombinación durante la replicación
(D) Serotipo simple que infecta al ser humano
(E) Genoma de polaridad negativa

6. Las siguientes son características frecuentes de los coronavirus, *excepto* una. ¿Cuál no es correcta?

(A) Poseen antígenos de reactividad cruzada con los virus de la gripe.
(B) Contienen los genomas más grandes entre los virus de RNA.
(C) Pueden causar gastroenteritis.
(D) Poseen distribución mundial.

7. Los coronavirus del SARS comparten algunas características (no todas) con los coronavirus HCoV-OC43 de humanos. De las afirmaciones siguientes: ¿cuál es válida respecto de los coronavirus del SARS?

(A) Causa brotes anuales durante el invierno (hemisferio septentrional)
(B) Se distribuye a escala mundial.
(C) Entre las poblaciones expuestas a un gran riesgo de presentar la enfermedad, está el personal de atención a la salud.
(D) Los hospedadores naturales son las civetas de las palmeras.

8. Una persona que vuelve de un viaje de la Mecca presenta inicialmente neumonía, fiebre y tos. ¿Cuál es el mejor estudio para el diagnóstico de coronavirus del MERS?

(A) Cuantificación del antígeno de coronavirus
(B) PCR de coronavirus humanos
(C) PCR DE MERS-CoV
(D) Cultivo de virus de aparato respiratorio

9. Seleccione el factor (o factores) de riesgo de que surja infección grave por coronavirus del MERS:

(A) Contacto reciente con camellos
(B) Infección previa por coronavirus
(C) Alergias estacionales
(D) Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Respuestas

1. E	4. D	7. C
2. B	5. C	8. C
3. B	6. A	9. D

BIBLIOGRAFÍA

Al-Tawfiq JA, Hinedi K, Ghandour J, *et al.*: Middle East respiratory syndrome coronavirus: A case-control study of hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2014;59:160.

Anderson LJ, Tong S: Update on SARS research and other possibly zoonotic coronaviruses. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36S:S21.

Baric RS, Hu Z (editors): SARS-CoV pathogenesis and replication. *Virus Res* 2008;133(Issue 1). [Entire issue.]

Booth TF, Kournikakis B, Bastien N, *et al.*: Detection of airborne severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and environmental contamination in SARS outbreak units. *J Infect Dis* 2005;191:1472.

Cheng VCC, Lau SK, Woo PC, Yuen KY: Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:660.

Hui DSC, Chan PKS: Severe acute respiratory syndrome and coronavirus. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:619.

Lee N, Hui D, Wu A, *et al.*: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003;348:1986.

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.

Perlman S, Dandekar AA: Immunopathogenesis of coronavirus infections: Implications for SARS. *Nat Rev Immunol* 2005;5:917.

Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, *et al.*: Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003;300:1394.

Van Boheemen S, de Graaf M, Lauber C, *et al.*: Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *mBio* 2012;3:e00473.

Wong SSY, Yuen KY: The management of coronavirus infections with particular reference to SARS. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:437.

CAPÍTULO

42

Rabia, infecciones por virus lentos y enfermedades priónicas

Muchos virus diferentes pueden invadir el sistema nervioso central (SNC) y causar enfermedades. En este capítulo se describe la rabia, una encefalitis viral temida desde la antigüedad que todavía es incurable; las infecciones por virus lentos; y las encefalopatías espongiformes transmisibles (trastornos neurodegenerativos raros que son causados por agentes no convencionales llamados "priones").

RABIA

La rabia es una infección aguda del SNC que casi siempre resulta letal. El virus suele transmitirse al ser humano por la mordedura de un animal rabioso. El número de casos en personas es pequeño, pero la rabia es un problema de salud pública importante pues está diseminada en diferentes reservorios animales.

Propiedades del virus

A. Estructura

El virus de la rabia es un rabdovirus con propiedades morfológicas y bioquímicas similares a las del virus de la estomatitis vesicular del ganado y varios virus de animales, plantas e insectos (cuadro 42-1). Los rabdovirus son partículas en forma de vara o de bala que miden 75 × 180 nm (figura 42-1). Las partículas están rodeadas por una envoltura membranosa con espículas sobresalientes, de 10 nm de longitud. Los peplómeros (espículas) se forman con trímeros de la glucoproteína viral. Dentro de la envoltura se encuentra una ribonucleocápside. El genoma es un RNA monocatenario de polaridad negativa (12 kb; peso molecular [M.W., *molecular weight*] de 4.6×10^6). Los viriones contienen una RNA polimerasa dependiente de RNA. Las partículas tienen una densidad de flotación en CsCl de casi 1.19 g/cm^3 y un M.W. de 300 a 1 000 × 10^6.

B. Clasificación

Los virus se clasifican dentro de la familia **Rhabdoviridae**. El virus de la rabia pertenece al género *Lyssavirus,* en tanto que los virus similares a los de la estomatitis vesicular son miembros del género *Vesiculovirus*. Los rabdovirus tienen una distribución muy amplia en la naturaleza e infectan invertebrados, vertebrados y plantas. El virus de la rabia es el único de importancia médica. Muchos de los rabdovirus animales infectan insectos, pero no el virus de la rabia.

C. Reacciones a agentes físicos o químicos

El virus de la rabia sobrevive al almacenamiento a una temperatura de 4 °C durante semanas y a −70 °C por años. El CO_2 lo inactiva de manera que en hielo seco se debe almacenar en frascos de vidrio sellados. El virus de la rabia se destruye con rapidez por exposición a la radiación ultravioleta o a la luz solar, mediante calentamiento (1 h a 50 °C), con solventes de lípidos (éter, desoxicolato de sodio al 0.1%), con tripsina, detergentes o con extremos de pH.

D. Replicación del virus

En la figura 42-2, se muestra el ciclo de replicación del rabdovirus. El virus de la rabia se adhiere a las células a través de sus proyecciones de glucoproteína; el receptor de acetilcolina nicotínico puede servir de receptor celular para el virus de la rabia. El genoma de RNA monocatenario se transcribe mediante la RNA polimerasa asociada al virión en cinco especies de mRNA. La plantilla para la transcripción es el genoma de RNA en la forma de ribonucleoproteína (RNP) (envuelta en la proteína N y que contiene la transcriptasa viral). Los mRNA monocistrónicos codifican las cinco proteínas del virión: nucleocápside (N), proteínas polimerasa (L,P), matriz (M) y glucoproteína (G). El genoma de RNP es una plantilla para el RNA complementario de polaridad positiva que hace posible la generación de la progenie de RNA de polaridad negativa. Las mismas proteínas virales funcionan como polimerasa para la replicación del RNA viral y también para la transcripción. Es necesaria la traducción constante en la replicación, sobre todo para las proteínas N y P virales. El RNA genómico recién replicado se vincula con la transcriptasa y la nucleoproteína del virus para formar núcleos de RNP en el citoplasma. Las partículas adquieren una envoltura mediante la gemación a través de la membrana plasmática. La proteína de la matriz viral forma una capa en el lado interno de la envoltura, en tanto que la glucoproteína viral se encuentra en la capa externa y forma las proyecciones externas.

E. Susceptibilidad de animales y multiplicación del virus

El virus de la rabia tiene una amplia gama de hospedadores. Todos los animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos, pueden infectarse. La susceptibilidad varía entre las especies de mamíferos y fluctúa desde muy alta (zorros, coyotes, lobos) a baja (zarigüeyas); los que tienen una susceptibilidad intermedia son zorrillos, mapaches y murciélagos (cuadro 42-2). El virus posee una amplia distribución en animales

apter 42_Carroll_4R.indd 607 15/04/16

CUADRO 42-1 Propiedades importantes de los rabdovirus

Virión: forma de bala, 75 nm de diámetro x 180 nm de longitud
Composición: RNA (4%), proteína (67%), lípido (26%), carbohidrato (3%)
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad negativa, de peso molecular de 4.6 millones, 12 kb
Proteínas: cinco proteínas principales; una es la glucoproteína de la envoltura
Envoltura: presente
Replicación: citoplasma, los viriones experimentan gemación a partir de la membrana plasmática
Características sobresalientes: Amplia gama de virus con abundantes tipos de hospedadores El grupo comprende el virus de la rabia letal

infectados, sobre todo en sistema nervioso, saliva, orina, linfa, leche y sangre. El restablecimiento de la infección es infrecuente excepto en algunos murciélagos, donde el virus se ha adaptado de modo peculiar a las glándulas salivales. Los murciélagos hematófagos pueden transmitir el virus por meses sin haber mostrado ningún signo de enfermedad.

Cuando se tienen aislamientos recientes en laboratorio, las cepas se designan como virus de la calle. Tales cepas muestran periodos de incubación largos y variables (por lo general, 21 a 60 días en perros) y casi siempre producen cuerpos de inclusión intracitoplásmicos. El paso serial de cerebro a cerebro en los conejos genera un virus "fijo" que ya no se multiplica en tejidos extraneurales. Este virus fijo (o mutante) se multiplica con rapidez y el periodo de incubación se acorta de cuatro a seis días. Los cuerpos de inclusión se detectan sólo con dificultad.

F. Propiedades antigénicas

Hay un solo serotipo del virus de la rabia. Sin embargo, existen diferencias de cepas entre los virus aislados de diferentes especies (mapaches, zorros, zorrillos, caninos, murciélagos) en distintas zonas geográficas. Estas cepas virales pueden distinguirse por los epítopos en la nucleoproteína y en la glucoproteína reconocidos por anticuerpos monoclonales y también por secuencias de nucleótido específicas. Se conocen por lo menos siete variantes antigénicas detectadas en animales terrestres y murciélagos.

La glucoproteína G es un factor importante en la neuroinvasividad y la patogenicidad del virus de la rabia. Se han seleccionado mutantes avirulentos del virus de la rabia mediante determinados anticuerpos monoclonales contra la glucoproteína viral. Una sustitución en la posición 333 del aminoácido de la glucoproteína provoca pérdida de la virulencia, lo cual indica alguna función esencial de este sitio de la proteína en la patogenia de la enfermedad.

Las espículas purificadas que contienen la glucoproteína viral desencadenan la producción de anticuerpos neutralizantes en los animales. El antisuero preparado contra la



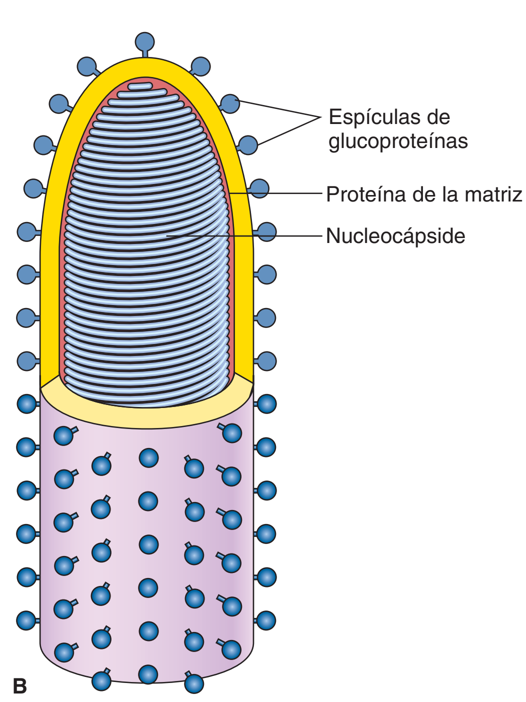


FIGURA 42-1 Estructura de los rabdovirus. **A:** Micrografía electrónica de una partícula en forma de bala característica de la familia de los rabdovirus (100 000x). Se muestra aquí el virus de la estomatitis vesicular con tinción negativa mediante fosfotungstato de potasio (cortesía de RM McCombs, M Benyesh-Melnick y JP Brunschwig). **B:** Modelo esquemático del virus de la rabia que muestra la superficie de las espículas de glucoproteína que se extienden desde la envoltura lipídica que rodea la nucleocápside interna y la proteína de la matriz que reviste la envoltura. La nucleocápside comprende el genoma de RNA único más la nucleoproteína y las proteínas de polimerasa. (Reproducida con autorización de Cowan MK, Talaro KP: *Microbiology. A Systems Approach*, 2a. Ed. McGraw-Hill, 2009. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

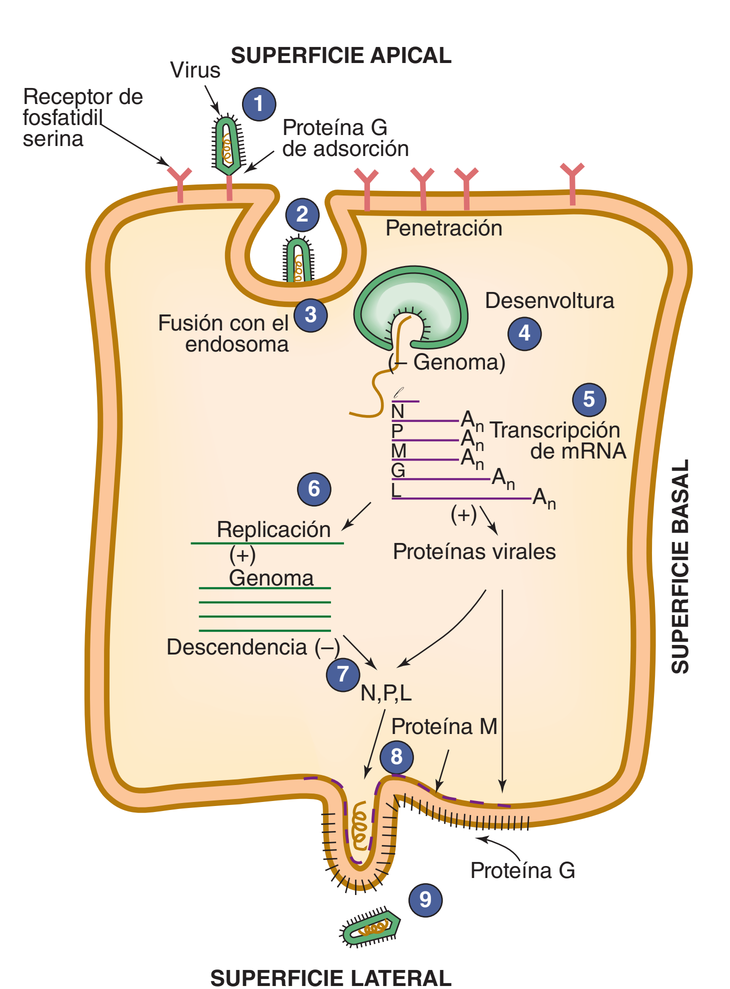


FIGURA 42-2 Pasos de la replicación de un rabdovirus: **(1)** Adherencia del virus; **(2)** penetración a un endosoma; **(3)** fusión del virus con la membrana endosómica, que libera el núcleo hacia el citoplasma; **(4)** desenvoltura de la nucleocápside; **(5)** RNA viral genómico de polaridad negativa transcrito a RNA de polaridad positiva; **(6)** RNA de polaridad positiva que sirve de plantilla para la síntesis de genoma viral, más mRNA que da origen a las proteínas virales; **(7)** el RNA de polaridad negativa se incorpora en las nucleocápsides (N); **(8)** las nucleocápsides se unen a la proteína de la matriz (M) en la superficie celular; **(9)** gemación del virus a partir de la superficie celular. (Reproducida con autorización de Levy JA, Fraenkel-Corat H, Owens RA: *Virology*, 3a. ed. Prentice Hall, 1994.)

CUADRO 42-2 Susceptibilidad de animales a la rabia

Muy alta	Alta	Moderada	Baja
Zorros	Hámsteres	Perros	Zarigüeyas
Coyotes	Zorrillos	Ovejas	
Chacales	Mapaches	Cabras	
Lobos	Gatos	Caballos	
Ratas algodoneras	Murciélagos	Primates no humanos	
	Conejos		
	Ganado vacuno		

Modificado con autorización de Baer GM, Bellini WJ, Fishbein DB: Rhabdoviruses. En Fields BN, Knipe DM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 2a. ed. Raven Press, 1990.

nucleocápside purificada se utiliza en pruebas de inmunofluorescencia diagnóstica para la rabia.

Patogenia y anatomía patológica

El virus de la rabia se multiplica en tejido muscular o conjuntivo en el lugar de inoculación y luego entra en los nervios periféricos a través de las uniones neuromusculares y se disemina por los nervios hasta el SNC. Sin embargo, también es posible que el virus de la rabia entre directamente en el sistema nervioso sin replicación local. El virus se multiplica en el SNC y sobreviene una encefalitis progresiva. Posteriormente se disemina a través de los nervios periféricos hacia las glándulas salivales y otros tejidos. El órgano con las concentraciones más altas del virus es la glándula salival submaxilar. Otros órganos donde se ha detectado el virus de la rabia son páncreas, riñón, corazón, retina y córnea. No se ha aislado el virus de la rabia en la sangre de personas infectadas.

La susceptibilidad a la infección y el periodo de incubación dependen de la edad del hospedador, los antecedentes genéticos y el estado inmunitario, el tipo de cepa viral, la cantidad de inóculo, la gravedad de las laceraciones y la distancia que el virus tiene que recorrer para trasladarse desde su lugar de entrada hasta el SNC. Hay una tasa de ataque aumentada y un periodo de incubación más breve en personas mordidas en la cara o en la cabeza; la mortalidad más baja se presenta en quienes reciben mordidas en las piernas.

El virus de la rabia produce una inclusión citoplásmica eosinófila específica, el cuerpo de Negri, en las células nerviosas infectadas. Los cuerpos de Negri están llenos de nucleocápsides virales. La presencia de estas inclusiones es patognomónica de la rabia, pero no se observa en por lo menos 20% de los casos; por lo tanto, la ausencia de cuerpos de Negri no descarta rabia como diagnóstico. La importancia de la búsqueda de los cuerpos de Negri en el diagnóstico de la rabia se ha reducido por el perfeccionamiento de las pruebas diagnósticas más sensibles como el uso de anticuerpo fluorescente y de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa.

Manifestaciones clínicas

La rabia es principalmente una enfermedad de animales silvestres y se disemina al ser humano por las mordeduras de animales rabiosos o por el contacto con la saliva de éstos. La enfermedad es una encefalitis aguda, fulminante y letal. El periodo de incubación en seres humanos de manera característica es de uno a tres meses y puede ser incluso de una semana o mayor de un año. Suele ser más breve en los niños que en los adultos. El cuadro clínico puede dividirse en tres fases: una fase prodrómica breve, una fase neurológica aguda y coma. El pródromo, que dura de dos a 10 días, puede mostrar cualquiera de los siguientes síntomas inespecíficos: ataque al estado general, anorexia, cefalea, fotofobia, náusea y vómito, faringitis y fiebre. Por lo general hay una sensación alterada alrededor de la herida.

Durante la fase neurológica aguda, que dura de dos a siete días, los pacientes muestran signos de disfunción del sistema nervioso como nerviosismo, aprensión, alucinaciones y conducta anómala. Se observa hiperactividad simpática general, lo cual comprende lagrimeo, dilatación pupilar e incremento

de la salivación y la transpiración. Una gran fracción de los pacientes muestra hidrofobia (temor al agua) o aerofobia (temor al sentir una brisa). El acto de la deglución desencadena un espasmo doloroso de los músculos de la garganta. Esta fase va seguida de convulsiones o coma y muerte. La principal causa del fallecimiento es la parálisis respiratoria. La rabia paralítica aparece en casi 30% de los pacientes, muy a menudo en los infectados con el virus de la rabia del murciélago. La evolución de la enfermedad es más lenta y algunos sujetos sobreviven 30 días. El restablecimiento y la supervivencia son en extremo infrecuentes.

Se debe considerar rabia en todo caso de encefalitis o mielitis de causa desconocida aun cuando no haya un antecedente de exposición y sobre todo en una persona que ha vivido o ha viajado fuera de Estados Unidos. La mayoría de los casos de rabia en dicho país corresponde a individuos sin exposición conocida. Debido al prolongado periodo de incubación, quizá las personas olviden el posible incidente de exposición. Los individuos que contraen rabia del murciélago casi nunca recuerdan que les haya mordido este animal.

El periodo de incubación habitual en los perros fluctúa de tres a ocho semanas, pero puede ser tan corto como 10 días. La enfermedad clínica en los perros se divide en las mismas tres fases que la rabia humana.

Diagnóstico de laboratorio

No se cuenta con métodos para diagnosticar las infecciones por rabia en seres humanos antes de que comiencen los síntomas clínicos. La rabia puede diagnosticarse mediante animales que han sido objeto de eutanasia o por prueba directa de anticuerpo fluorescente de tejido cerebral.

A. Antígenos de la rabia o ácidos nucleicos

Hoy día, los tejidos infectados con el virus de la rabia se identifican con mayor rapidez y precisión por medio de inmunofluorescencia o con inmunoperoxidasa que utiliza anticuerpos monoclonales contra la rabia. Suele obtenerse una pieza de biopsia de la piel de la nuca en la línea de implantación del cabello. Se pueden utilizar preparaciones de impresión de tejido cerebral o corneal.

Un diagnóstico anatomopatológico definitivo de rabia se puede basar en el hallazgo de cuerpos de Negri en el cerebro o en la médula espinal. Tales cuerpos están muy bien delimitados, son más o menos esféricos con un diámetro de 2 a 10 μm y tienen una estructura interna distintiva con gránulos basófilos en una matriz eosinófila. Los cuerpos de Negri contienen antígenos del virus de la rabia (figura 42-3). Tanto dichos cuerpos como el antígeno de la rabia por lo general se detectan en animales o seres humanos infectados con rabia, pero es poco frecuente encontrarlos en murciélagos.

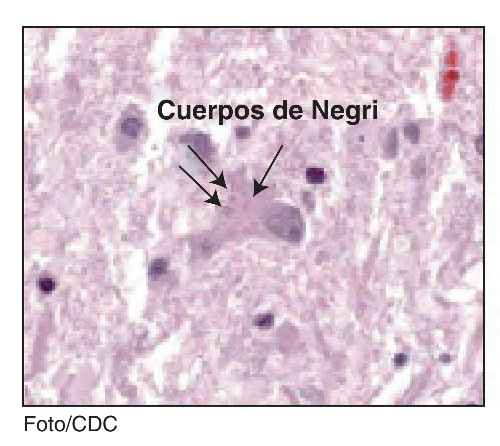
Se pueden utilizar las pruebas de transcripción acoplada a la reacción en cadena de polimerasa para amplificar partes de un genoma de virus de la rabia de tejido cerebral fijado o sin fijación. El establecimiento de la secuencia de productos amplificados permite la identificación de la cepa del virus infectante.

B. Diagnóstico serológico

Los anticuerpos séricos contra la rabia se pueden detectar mediante pruebas de inmunofluorescencia o de neutralización. Tales anticuerpos se desarrollan con lentitud en las personas o los animales infectados durante el progreso de la enfermedad, pero rápidamente después de la vacunación con vacunas derivadas de células. Se producen anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo en personas infectadas con rabia, pero no en respuesta a la vacunación.

C. Aislamiento del virus

El tejido disponible se inocula dentro del cerebro en los ratones lactantes. La infección en éstos produce encefalitis y muerte. El SNC del animal inoculado se analiza para buscar cuerpos de Negri y antígenos de la rabia. En laboratorios especializados, se inoculan estirpes celulares de hámster y de ratón para la multiplicación rápida (dos a cuatro días) del virus de la rabia; esto es mucho más rápido que el aislamiento del virus en los ratones. Un virus aislado se identifica mediante la prueba de anticuerpos fluorescentes con un antisuero específico. El



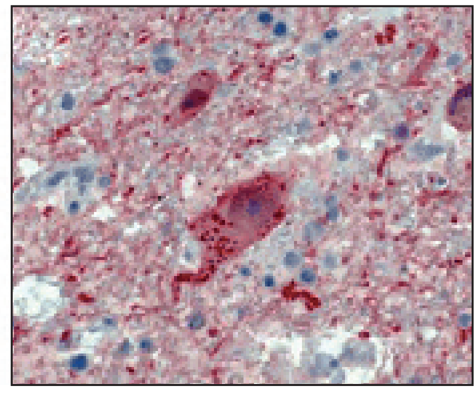


FIGURA 42-3 Análisis histopatológico de tejido del sistema nervioso central con necropsia de un finado con sospecha de infección de rabia, que muestra inclusiones citoplásmicas neuronales (corpúsculos de Negri) después de tinción con hematoxilina y eosina **(A)** y antígeno de virus de la rabia (rojo) después de la coloración inmunohistoquímica **(B)** (*Fuente*: Centers for Disease Control and Prevention: Human rabies: Kentucky/Indiana, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59:393.)

CUADRO 42-3 Guía para la profilaxia contra la rabia después de la exposición: Estados Unidos, 2008

Las siguientes recomendaciones son sólo una guía. Al aplicarlas hay que tomar en cuenta la especie del animal que se trate, las circunstancias de la mordedura u otra exposición, el estado de vacunación del animal y la existencia de rabia en la región. Nota: debe consultarse a las autoridades de salud pública locales o estatales si surgen dudas sobre la necesidad de profilaxia contra la rabia.

Tipo de animal	Valoración del animal	Tratamiento de la persona expuesta[a]
Doméstico		
Gatos, perros y hurones	Sano y disponible durante 10 días para observación Con rabia o sospecha de rabia Desconocido (se escapó)	Ninguno, a menos que el animal presente síntomas de rabia. Comenzar de inmediato la profilaxia . Consultar a las autoridades de salud pública
Silvestres		
Zorrillos, mapaches, murciélagos, zorros, coyotes y otros carnívoros	Considérese como rabioso a menos que el animal resulte negativo en los análisis de laboratorio	Valorar profilaxia inmediata
Otros		
Ganado vacuno, roedores y lagomorfos (conejos y liebres)	Considérese de forma individual. Hay que consultar a las autoridades de salud pública locales y estatales respecto a la necesidad de profilaxia contra la rabia. En caso de mordeduras de ardillas, hámsteres, cobayos, jerbos, ardillas listadas, ratas, ratones, otros roedores, conejos y liebres, casi nunca se necesita la profilaxia contra la rabia	

[a]La profilaxia consta de limpieza inmediata y meticulosa de las heridas por mordedura y otras lesiones con agua y jabón, administración de la inmunoglobulina contra la rabia y vacunación. *Fuente: MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57(RR-3):1.

aislamiento del virus tarda demasiado tiempo para ayudar a tomar una decisión respecto a si es conveniente administrar o no una vacuna.

D. Observación de animales

Todos los animales que se consideren "rabiosos o sospechosos de rabia" (cuadro 42-3) deberían de sacrificarse de inmediato para el análisis de los tejidos neurales en el laboratorio. Otros animales deben retenerse para su observación durante 10 días; si muestran algún signo de encefalitis, rabia o comportamiento inusual, han de sacrificarse sin causarles sufrimiento y analizarse los tejidos en el laboratorio. Si el aspecto es normal después de 10 días, debe tomarse la decisión en forma individual con la asesoría de las autoridades de salud pública.

Inmunidad y profilaxia

Se conoce sólo un tipo antigénico del virus de la rabia. Más de 99% de las infecciones en seres humanos y en otros mamíferos surgen síntomas y tienen un desenlace letal. La supervivencia tras el inicio de los síntomas de rabia es en extremo rara. Por lo tanto, es esencial que las personas con alto riesgo reciban inmunización preventiva, que se valoren las características y el riesgo de cualquier exposición y que las personas reciban profilaxia después de la exposición si se considera que ésta ha sido peligrosa (cuadro 42-3). Puesto que el tratamiento no tiene ninguna utilidad después de la aparición de la enfermedad clínica, es indispensable iniciar con rapidez el tratamiento después de la exposición. La profilaxia contra la rabia después de la exposición consiste en la limpieza inmediata y meticulosa de todas las heridas con agua y jabón, así como la administración de inmunoglobulina contra la rabia y un esquema de vacunación.

A. Fisiopatología de la rabia y profilaxia mediante vacuna

Supuestamente el virus debe multiplicarse en el músculo cerca del lugar de la inoculación hasta que la concentración del virus sea suficiente para lograr la infección del SNC. Si se puede administrar con rapidez la vacuna inmunógena o el anticuerpo específico, se podrá reprimir la replicación del virus y evitar que éste invada el SNC. La acción del anticuerpo administrado de forma pasiva es neutralizar parte del virus inoculado y reducir la concentración del virus en el organismo, dando tiempo adicional para que una vacuna estimule la producción activa de anticuerpo y evite la entrada en el SNC. Por lo tanto, la profilaxia exitosa luego de la exposición evitará la aparición de las manifestaciones clínicas de la rabia.

B. Tipos de vacunas

Todas las vacunas para uso humano contienen sólo virus de la rabia inactivado. En Estados Unidos, se dispone de dos vacunas, aunque en otros países se utilizan otras diversas. Las dos vacunas contra la rabia disponibles en dicho país tienen la misma eficacia y seguridad.

1. Vacuna de células diploides humanas (HDCV, *human diploid cell vaccine*). Para obtener una suspensión de virus de la rabia libre del sistema nervioso y de proteínas extrañas, el virus de la rabia se multiplica en una estirpe de células diploides humanas MRC-5. La preparación del virus de la rabia se concentra mediante ultrafiltración y se inactiva con propiolactona β. No se ha comunicado ninguna reacción anafiláctica o encefalítica grave. Se ha utilizado esta vacuna en Estados Unidos desde 1980.

2. Vacuna de células de embrión de pollo purificada (PCEC, *purified chick embryo cell vaccine*). Esta vacuna se prepara a partir de la cepa del virus de la rabia Flury LEP fijada y multiplicada en fibroblastos de pollos. Se inactiva con propiolactona β y se purifica mediante centrifugación zonal. En 1997, comenzó a estar disponible en Estados Unidos.

Una vacuna recombinante viral, que consta de variolovacuna portadora del gen de la glucoproteína de superficie de la rabia, ha inmunizado con éxito animales después de

administración por la boca. Esta vacuna puede probar valía en la inmunización tanto de reservorios salvajes como de animales domésticos.

C. Tipos de anticuerpo de la rabia

1. Inmunoglobulina de la rabia humana (HRIG, *human rabies immune globulin*). La HRIG es una gammaglobulina preparada mediante fraccionamiento en etanol frío a partir del plasma de seres humanos hiperinmunizados. Se presentan menos reacciones adversas a la HRIG que al suero antirrábico equino.

2. Suero antirrábico equino. Éste es un suero concentrado de caballos hiperinmunizados con el virus de la rabia. Se ha utilizado en países donde no se dispone de la HRIG.

D. Profilaxia previa a la exposición

Se utiliza en personas con alto riesgo de contacto con el virus de la rabia (personal de investigación y de laboratorio diagnóstico, espeleólogos) o con animales rabiosos (veterinarios, personal de control de animales y de la vida silvestre). El objetivo es lograr una concentración de anticuerpo que se supone sea protectora por medio de la administración de la vacuna antes de cualquier exposición. Se recomienda que se vigilen de manera periódica las concentraciones de anticuerpos de personas vacunadas y que se administren refuerzos cuando sea necesario.

E. Profilaxia después de la exposición

Surgen pocos casos (cero a cinco) de la rabia humana en Estados Unidos por año, pero más de 20 000 personas reciben algún tratamiento anual debido a una posible exposición por mordedura. La decisión para administrar anticuerpo de la rabia, vacuna de la rabia, o ambos, depende de varios factores: 1) características del animal que mordió (especie, estado de salud, doméstico o salvaje) y su estado de vacunación; 2) disponibilidad de animales para pruebas de laboratorio (*todas* las mordeduras de animales salvajes y murciélagos requieren inmunoglobulina y vacuna de la rabia); 3) existencia de rabia en la zona; 4) forma del ataque (provocado o no); 5) gravedad de la mordedura y contaminación por saliva del animal, y 6) asesoría de las autoridades de salud pública locales (cuadro 42-3). Los esquemas para la profilaxia después de la exposición que comprenden la administración de inmunoglobulina de la rabia y la vacuna se pueden obtener en los *Centers for Disease Control and Prevention* y en las oficinas locales de salud pública.

Epidemiología

La rabia es enzoótica tanto en animales silvestres como domésticos. En todo el mundo, cada año se presentan por lo menos 50 000 casos de rabia humana; sin embargo, la rabia no se notifica como se debiera en muchos países. Casi todas las muertes por esta entidad patológica (> 99%) tienen lugar en los países en vías de desarrollo y en Asia se produce más de 90% de todos los fallecimientos por rabia. En estos países, donde la rabia canina todavía es endémica, casi todos los casos humanos se presentan por mordeduras de perros rabiosos. Los niños de cinco a 15 años de edad tienen mayor riesgo. Se estima que unos 15 millones de personas reciben cada año profilaxia después de la exposición y la mayor parte de ellas está en China e India.

En Estados Unidos, Canadá y Europa Occidental, donde se ha controlado la rabia canina, los perros son causa de muy pocos casos. En cambio, la rabia humana se presenta por mordedura de animales silvestres (sobre todo murciélagos, mapaches, zorrillos y zorros) o aparece en viajeros mordidos por perros en otras partes del mundo. El problema más importante en el ganado al parecer es la rabia transmitida por murciélagos hematófagos en Latinoamérica. El incremento de la rabia silvestre en Estados Unidos y en algunos otros países desarrollados plantea un riesgo mucho mayor para el ser humano que los perros o los gatos.

La incidencia de rabia en seres humanos en Estados Unidos, como consecuencia de la erradicación satisfactoria de la enfermedad en perros domésticos, disminuyó a una cifra menor de tres personas por año en los últimos 20 años.

El análisis antigénico con anticuerpos monoclonales y la genotipificación por análisis de secuencia de nucleótidos permite diferenciar cepas de virus de rabia, proveniente de diferentes reservorios animales. Del 2000 al 2011 en Estados Unidos, se hizo el diagnóstico de 32 casos de rabia en seres humanos, y de ellos más de 95% tuvo un origen doméstico, cuya causa fue un virus propio del murciélago. Ocho de nueve pacientes padecieron rabia importada, proveniente de cepas características de perros.

Los mapaches constituyen un reservorio importante de la rabia en Estados Unidos y contribuyen a más de 50% de todos los casos notificados de esta enfermedad en animales. Se considera que la rabia de los mapaches se introdujo en la región del Atlántico medio en la década de 1970, donde los mapaches infectados se transportaron allí desde el sureste de Estados Unidos para restituir las poblaciones de caza. La epizootia de la rabia de los mapaches se ha diseminado y ahora abarca la zona oriental de dicho país y parte de Canadá.

Los murciélagos conforman un problema especial porque tienen la posibilidad de portar el virus de la rabia y aunque tengan aspecto sano, lo pueden excretar en la saliva y transmitirlo a otros animales y al ser humano. Entre los casos de rabia en personas en Estados Unidos atribuidos a variantes propias de murciélagos, la causa de la mayor parte correspondió a las variedades de pelo plateado y el murciélago oriental (*pipistrelle*). Sin embargo, sólo dos casos se relacionaron con un antecedente de mordedura de murciélago, ya que casi todas las exposiciones al murciélago pasan inadvertidas. Las cavernas de estos animales pueden contener aerosoles del virus de la rabia y plantear un riesgo para los espeleólogos. Se conocen murciélagos migratorios que comen frutas en muchos países y son una fuente de infección para gran cantidad de animales y seres humanos. La rabia del murciélago es importante en el inicio de las enzootias terrestres en nuevas regiones. En 1996 se descubrió que Australia, por mucho tiempo considerada un continente sin rabia, alberga el virus de esta enfermedad en murciélagos de la fruta. Todas las personas mordidas por murciélagos deben recibir profilaxia contra la rabia después de la exposición.

La rabia transmitida entre seres humanos es muy infrecuente. Los únicos casos comprobados fueron los de la rabia transmitida por trasplantes de córnea y de órganos. Un ejemplo son los trasplantes corneales (las córneas se derivaban de donadores que murieron con enfermedades del SNC no

diagnosticadas y los receptores fallecieron por rabia 50 a 80 días después). El primer caso corroborado en el que estaban implicados los trasplantes de órganos sólidos se presentó en Estados Unidos en 2004. El hígado y los riñones de un solo donante se trasplantaron a tres receptores, los cuales fallecieron de rabia confirmada cinco a siete semanas más tarde. La transmisión posiblemente tuvo lugar a través del tejido nervioso en los órganos de trasplante, ya que el virus de la rabia no se disemina en sangre. De forma hipotética, la rabia quizá se origine de la saliva de un paciente que tiene este padecimiento y que expone al personal que lo atiende, pero tal transmisión nunca se ha comprobado.

Tratamiento y control

No se dispone de un tratamiento satisfactorio para la rabia clínica. Se ha demostrado que los interferones, la ribavirina y otros fármacos no tienen efectos útiles. El tratamiento sintomático puede prolongar la vida, pero el resultado casi siempre es letal.

Desde el pasado, varios acontecimientos decisivos han contribuido al control de la rabia humana: la creación de una vacuna contra la rabia humana (1885), el descubrimiento de los cuerpos de Negri diagnósticos (1903), el empleo de vacunas contra la rabia en perros (decenio de 1940), la adición de inmunoglobulina de la rabia a los tratamientos de vacunación después de la exposición en seres humanos (1954), el crecimiento del virus de la rabia en cultivos celulares (1958) y el desarrollo de pruebas diagnósticas con anticuerpos fluorescentes (1959).

Es deseable la vacunación después de la exposición en todas las personas que tienen un riesgo alto de contacto con animales rabiosos, como veterinarios, personal que atiende a animales, determinado personal de laboratorio y espeleólogos. Los individuos que viajan a los países en vías de desarrollo donde los programas de control de la rabia para animales domésticos no son óptimos deben recibir profilaxia antes de la exposición si piensan permanecer por más de 30 días. Sin embargo, dicha profilaxia no elimina la necesidad de la profilaxia inmediata después de la exposición cuando tiene lugar contacto con este padecimiento.

Los países aislados (p. ej., Gran Bretaña) que no presentan rabia nativa en animales silvestres pueden establecer procedimientos de cuarentena para perros y otras mascotas que se importan. En las naciones donde existe la rabia canina, los animales callejeros deben sacrificarse y hacer obligatoria la vacunación de perros y gatos que son mascotas. En los países donde existe rabia en el mundo animal y donde es inevitable el contacto con animales domésticos, mascotas y animales silvestres, es indispensable vacunar a todos los animales domésticos y mascotas.

Una vacuna oral con glucoproteína recombinante de virus de la rabia (V-RG, *rabies glycoprotein recombinant virus vaccine*) expresada en el virus variolovacuna (vaccinia) resultó eficaz para controlar la rabia en zorros en Europa. Añadida a cebos, la vacuna oral se está utilizando para controlar las epizootias de la rabia en animales salvajes en Estados Unidos.

Infecciones emergentes por rhabdovirus

En 2009 un brote pequeño de fiebre hemorrágica en África central se asoció con un rabdovirus llamado virus de Bas-Congo. Dos pacientes murieron y dos trabajadores del sistema de salud sobrevivieron, lo cual indicó la transmisión potencial persona a persona. No se sabe cuál es el reservorio animal probable y tampoco se han identificado más casos.

CUADRO 42-4 Propiedades importantes de los bornavirus

Virión: esférico, de 90 nm de diámetro
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad negativa, de 8.9 kb y de 3 millones de peso molecular
Proteínas: seis proteínas estructurales
Envoltura: presente
Replicación: núcleo; lugar de maduración no identificado
Características sobresalientes: Amplia gama de operadores Neurotrópico Causa anomalías neuroconductuales

ENFERMEDAD DE BORNA

Es una enfermedad del SNC que afecta principalmente a los caballos y las ovejas en algunas regiones de Alemania y que se manifiesta por anomalías en el comportamiento que por lo general terminan con la muerte del animal. Se presentan infiltrados de células inflamatorias en el cerebro. El trastorno es mediado por factores inmunitarios.

El virus de la enfermedad de Borna (BDV, *Borna disease virus*) es un virus RNA con envoltura, no segmentado de polaridad negativa de la familia **Bornaviridae** (cuadro 42-4). El BDV es un virus nuevo entre los virus RNA, con sentido negativo y no segmentado, porque transcribe y logra replicar su genoma en el núcleo y utiliza empalme de RNA para regular la expresión génica. El BDV no es citolítico, es fuertemente neurotrópico y origina infecciones persistentes. Se ha reconocido un solo serotipo de BDV. Por lo común, son muy pequeñas las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas por especies del hospedador.

Los bornavirus infectan muchas especies, entre otras, la de los seres humanos. Los datos de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa sugieren que BDV pudiera vincularse con trastornos neuropsiquiátricos en seres humanos, aunque tales hallazgos no han logrado consenso y no se ha definido si BDV interviene como factor causal en la fisiopatología de algunos trastornos mentales de pacientes.

INFECCIONES POR VIRUS LENTOS Y ENFERMEDADES PRIÓNICAS

Algunas enfermedades crónicas degenerativas del SNC en el ser humano son causadas por infecciones "lentas" o crónicas, persistentes, producidas por virus clásicos. Entre ellas están la panencefalitis esclerosante subaguda y la leucoencefalopatía multifocal progresiva. Otras enfermedades conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles (p. ej., la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob [CJD, *Creutzfeldt-Jakob disease*]) tienen su origen en agentes transmisibles no convencionales denominados "priones" (cuadro 42-5). Los trastornos neurológicos progresivos que

CUADRO 42-5 Enfermedades priónicas y por virus lentos

Enfermedad	Agente causal	Hospedadores	Periodo de incubación	Características esenciales de la enfermedad
Enfermedades de seres humanos				
Panencefalitis esclerosante subaguda	Variante del virus del sarampión	Seres humanos	2 a 20 años	Panencefalitis esclerosante crónica
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	JCV de los poliomavirus	Seres humanos	Años	Desmielinización del sistema nervioso central
CJD	Prion	Seres humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
CJD variante[a]	Prión	Seres humanos, ganado vacuno	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Kuru	Prion	Seres humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Enfermedades de animales				
Visna	Retrovirus	Ovejas, cabras, ratones, hámster	Meses a años	Desmielinización del sistema nervioso central
Scrapie de las ovejas	Prion	Ovejas, cabras, ratones, hámsteres	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía espongiforme bovina	Prion	Ganado vacuno	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía transmisible del visón	Prion	Visón, otros animales	Meses	Encefalopatía espongiforme
Enfermedad de desgaste crónico	Prion	Venado bura , alce	Meses a años	Encefalopatía espongiforme

[a] Relacionada con la exposición al material contaminado con el agente de la encefalopatía espongiforme bovina.

CJD, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; JCV, virus JC.

producen estos agentes pueden tener periodos de incubación de años antes de que las manifestaciones clínicas de la infección se hagan evidentes (cuadro 42-5).

Infecciones por virus lentos

A. Visna

Los **virus visna** y de la **neumonía progresiva (maedi)** son agentes muy relacionados que producen infecciones de desarrollo lento en las ovejas. Estos virus se clasifican como retrovirus (género *Lentivirus*; capítulo 44).

El virus visna infecta todos los órganos del cuerpo de las ovejas infectadas; sin embargo, los cambios anatomopatológicos están circunscritos principalmente al cerebro, los pulmones y el sistema reticuloendotelial. Se presentan lesiones inflamatorias en el SNC poco después de la infección, pero suele haber un periodo de incubación prolongado (meses a años) antes de que aparezcan síntomas neurológicos observables. La evolución de la enfermedad puede ser rápida (semanas) o lenta (años).

El virus puede aislarse durante la vida del animal, pero la expresión viral se restringe *in vivo* de manera que sólo hay presentes cantidades mínimas del virus infeccioso. La variación antigénica tiene lugar durante las infecciones persistentes a largo plazo. Muchas mutaciones aparecen en el gen estructural que codifica las glucoproteínas de la envoltura viral. Los animales infectados generan anticuerpos contra el virus.

B. Panencefalitis esclerosante subaguda

Es una enfermedad infrecuente de adultos jóvenes causada por el virus del sarampión con una desmielinización progresiva lenta del SNC que provoca el fallecimiento de la persona (capítulo 40). Un gran número de estructuras de la nucleocápside viral se produce en las neuronas y en las células de la neuroglia. Hay una expresión restringida de los genes virales que codifican las proteínas de la envoltura, de manera que el virus en las células neurales con infección persistente carece de las proteínas necesarias para generar las partículas infecciosas. Los pacientes con panencefalitis esclerosante subaguda tienen concentraciones altas de anticuerpos contra el sarampión pero a menudo se carece del anticuerpo contra la proteína M. La eficacia reducida de la transcripción del virus del sarampión en las células cerebrales diferenciadas es importante para mantener la infección persistente que desencadena la panencefalitis esclerosante subaguda.

C. Leucoencefalopatía multifocal progresiva

El virus JC (JCV), un miembro de la familia **Polyomaviridae** (capítulo 43), es el agente causal de la leucoencefalopatía multifocal progresiva, una complicación del SNC que se presenta en algunas personas inmunodeprimidas. La enfermedad en un tiempo fue muy infrecuente y surge en una proporción importante (alrededor del 5%) de los pacientes con sida; sin embargo, puesto que los antivirales hacen más lento el avance de las infecciones por el VIH, menos pacientes presentan esta enfermedad. La leucoencefalopatía multifocal progresiva también es una complicación rara de algunos anticuerpos monoclonales usados con propósito terapéutico contra enfermedades, como la esclerosis múltiple. La desmielinización del SNC en sujetos con leucoencefalopatía multifocal progresiva es consecuencia de reactivación y réplica del virus JC cuando hay deterioro del sistema inmunitario.

Encefalopatías espongiformes transmisibles (enfermedades priónicas)

Las enfermedades degenerativas del SNC (kuru, CJD, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insomnio familiar letal del ser humano, scrapie de las ovejas, encefalopatía transmisible del visón, encefalopatía espongiforme bovina (BSE, *bovine spongiform encephalopathy*) y la enfermedad debilitante crónica de los ciervos) tienen características patológicas similares. Estas entidades patológicas se describen como encefalopatías espongiformes transmisibles. Los agentes causales no son virus comunes; la infectividad se relaciona con el material proteináceo desprovisto de cantidades detectables de ácido nucleico. Se utiliza el término **"prion"** para designar esta nueva clase de agentes.

Los diferentes tipos de priones al parecer tienen mecanismos patógenos comunes. Existen barreras de especies para todas las encefalopatías espongiformes transmisibles, pero algunos priones han cruzado tales barreras. Estas enfermedades se vinculan con adquisición de proteínas priónicas mal plegadas que pueden causar plegamiento erróneo y acumulación de proteína priónica celular normal expresada en tejido cerebral.

Estos agentes poseen resistencia notable a los medios habituales de inactivación; soportan el tratamiento con formaldehído (3.7%), urea (8 M), calor seco, ebullición, etanol (50%), proteasas, desoxicolato (5%) y radiación ionizante. Sin embargo, son sensibles al fenol (90%), blanqueador doméstico, éter, NaOH (2 N), detergentes potentes (sulfato de dodecilo sódico al 10%) y autoclave (una hora a 121 °C). El tiocianato de guanidina es muy eficaz para descontaminar los aditamentos e instrumentos médicos.

Las enfermedades causadas por estos agentes inhabituales tienen varios datos característicos distintivos. El agente etiológico puede aislarse de otros órganos, pero las enfermedades están circunscritas al sistema nervioso. Las manifestaciones básicas son neurodegeneración y cambios espongiformes. Es posible que existan placas de amiloide. Los periodos de incubación prolongados (meses a décadas) preceden el inicio de la enfermedad clínica y van seguidos de una entidad patológica progresiva crónica (semanas a años). Las enfermedades siempre son letales y no se conocen casos de remisión o recuperación. El hospedador no muestra ninguna respuesta inflamatoria y tampoco inmunitaria (estos agentes causales no parecen ser antigénicos); no se desencadena la producción de interferón, y no hay ningún efecto sobre la función del linfocito B o del T del hospedador. La inmunodepresión de este último no genera efecto alguno en la patogenia; sin embargo, la inflamación crónica provocada por otros factores (virus, bacterias, autoinmunidad) puede afectar la patogenia del prion. Se ha observado que los priones se acumulan en órganos con inflamación linfocítica crónica. Cuando coinciden con nefritis, se excretan priones en la orina.

A. Scrapie de las ovejas

Dicho trastorno muestra notables diferencias en la susceptibilidad de distintas razas de animales. La susceptibilidad al scrapie de las ovejas transmitida de forma experimental varía de cero a más de 80% en diversas razas de estos animales, en tanto que las cabras son casi 100% susceptibles. La transmisión del scrapie de las ovejas a ratones y hámsteres, en los cuales se reduce bastante el periodo de incubación, ha facilitado el estudio de la enfermedad.

La infecciosidad puede recuperarse de los tejidos linfoides en las primeras etapas de la infección y se encuentran altas concentraciones del agente en cerebro, médula espinal y ojos (los únicos lugares donde se observan los cambios patológicos). La proteína de priones se vincula con linfocitos B circulantes en casos de scrapie de las ovejas. La infecciosidad también se ha detectado en la leche de ovejas que incuban el scrapie natural. Los valores máximos de infecciosidad se alcanzan en el cerebro mucho antes de que aparezcan los síntomas neurológicos. La enfermedad se caracteriza por la aparición de placas amiloides en el SNC de los animales infectados. Estas zonas representan acumulaciones extracelulares de proteína, las cuales se tiñen con rojo Congo.

Es posible purificar una proteína de masa molecular de 27 a 30 kDa, resistente a la proteasa, proveniente del cerebro infectado de scrapie de las ovejas y se designa proteína priónica PrP. Las preparaciones que contienen sólo PrP y ningún ácido nucleico detectable son infecciosas. La PrP se deriva de una proteína más grande codificada por el hospedador, la PrP^{Sc}, que es una versión alterada de la proteína celular normal (PrP^{C}). La proteína es una proteína de membrana anclada a un glucolípido. La concentración de PrP^{Sc} aumenta en los cerebros infectados porque la proteína se vuelve resistente a la degradación. La susceptibilidad genética al scrapie de las ovejas se relaciona con mutaciones puntuales en el gen de la PrP^{C}, y los ratones alterados de forma genética desprovistos de PrP^{C} son resistentes al scrapie de las ovejas. Un modelo de configuración de la replicación priónica propone que la PrP^{Sc} forma un heterodímero con PrP^{C} y lo dobla de manera que se vuelve semejante a PrP^{Sc}. Se especula que las "cepas" de priones reflejan diferentes conformaciones de PrP^{Sc}. En los últimos años, algunos estudios han generado priones sintéticos *in vitro* que causaron enfermedad después de inocularlos *in vivo*, lo cual sugiere que los priones son proteínas infectantes.

B. Kuru y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob clásica

Dos encefalopatías espongiformes humanas son el kuru y la forma clásica de la CJD. Los homogeneizados de cerebro de los pacientes han transmitido las dos enfermedades a primates no humanos. El kuru ocurrió sólo en las tierras altas orientales de Nueva Guinea y se propagó por las costumbres de canibalismo ritual de los parientes muertos. Desde que ha cesado esta práctica, la enfermedad ha desaparecido. La CJD en el ser humano se presenta de forma gradual con demencia progresiva, ataxia y mioclono y produce la muerte del paciente en un lapso de cinco a 12 meses. Se cree que la CJD esporádica se origina de la transformación espontánea de proteína priónica normal en priones alterados. Esto sucede con una frecuencia de aproximadamente un caso por millón de habitantes por año en Estados Unidos y Europa y abarca pacientes que rebasan los 50 años de edad. En personas menores de 30 años, la incidencia estimada es menor de un caso por 200 millones. Se cree que la causa de la CJD esporádica es la transformación espontánea de proteína priónica normal en priones alterados. Sin embargo, la nueva variante de la CJD vinculada con la BSE (véase más

adelante) ha afectado principalmente a personas menores de 30 años de edad.

Dos formas familiares de la CJD son el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar letal. Estas enfermedades son infrecuentes (10 a 15% de los casos de CJD) y se deben a la herencia de mutaciones en el gen de la PrP.

La CJD iatrógena se ha transmitido de modo accidental por preparados de hormona de crecimiento contaminada proveniente de hipófisis de cadáveres humanos, por trasplante de córnea, por instrumentos quirúrgicos contaminados y por injertos de duramadre humana de cadáver que se utilizan para la reparación quirúrgica de lesiones craneales. Al parecer los receptores de injertos de duramadre contaminados siguen teniendo riesgo de presentar CJD durante más de 20 años después de recibir los injertos. Hoy día, no hay indicios de transmisión de la CJD por sangre o hemoderivados, aunque existe la posibilidad.

C. Encefalopatía espongiforme bovina y nueva variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Una enfermedad similar al scrapie de las ovejas, la BSE o "enfermedad de las vacas locas", surgió en el ganado en Gran Bretaña en 1986. Este brote epidémico se rastreó al uso de alimento de ganado que contenía hueso molido contaminado proveniente de ovejas infectadas con scrapie de ovejas y cadáveres de ganado infectados con BSE. La utilización de tal alimento para ganado se prohibió en 1988. La epidemia de la "enfermedad de las vacas locas" alcanzó su máximo en Gran Bretaña en 1993. Se estima que se infectó más de un millón de cabezas de ganado. Asimismo, se ha encontrado BSE en otros países europeos. En 1996, se reconoció una nueva variante de la CJD en el Reino Unido que afectaba a personas más jóvenes y que tenía características patológicas distintivas similares a las de la BSE. Hoy día se acepta que las formas variantes nuevas de CJD y BSE tienen un agente común, lo cual indica que el agente causal de la BSE había infectado a seres humanos. Durante todo 2006, a más de 150 personas se les había diagnosticado la nueva variante de CJD en Inglaterra y la mayoría falleció. Al parecer, un polimorfismo específico en la secuencia de aminoácidos de la proteína priónica humana influye en la susceptibilidad a la enfermedad.

D. Enfermedad de desgaste crónico

Una entidad patológica parecida al scrapie de las ovejas, designada enfermedad de desgaste crónico, se presenta en el ciervo macho y en el alce en Estados Unidos y Canadá. Se transmite de modo lateral con gran eficacia, pero no hay indicios de su transmisión al ser humano. La infectividad también se ha detectado en heces de venados antes de enfermarse; el agente se retiene en la tierra, y de ella pueden ingerirlo otros venados y alces.

E. Enfermedad de Alzheimer

Hay algunas similitudes neuropatológicas entre la CJD y la enfermedad de Alzheimer, como lo es la aparición de placas amiloides. Sin embargo, la enfermedad no se ha transmitido de forma experimental a primates o roedores y el material amiloide en los cerebros de los pacientes con enfermedad de Alzheimer no contiene proteína PrP^{Sc}.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- La rabia es una encefalitis viral casi siempre letal una vez que aparecen los síntomas. Su causa corresponde al virus RNA clasificado como rhabdovirus.
- Los seres humanos se infectan de rabia por la mordedura de un animal rabioso. El periodo de incubación varía de una semana a más de un año.
- Casi todos los fallecimientos por rabia a escala mundial se sitúan en Asia y son consecuencia de mordedura de perros rabiosos. En Estados Unidos, muchos de los casos en seres humanos provienen de animales salvajes.
- Para utilizar en personas, se cuenta con vacunas del virus muerto de la rabia; también para inmunización de animales se dispone de vacunas elaboradas a partir de virus vivos atenuados.
- No se cuenta con métodos para diagnosticar las infecciones por rabia en seres humanos antes de que se manifieste la enfermedad. Tampoco se tiene tratamiento satisfactorio de la enfermedad declarada clínicamente.
- La profilaxia después de la exposición comprende la administración de anticuerpos antirrábicos, vacuna contra la rabia o ambos preparados después de una posible exposición.
- La panencefalitis esclerosante subaguda es un trastorno raro y letal del SNC cuya causa es el virus del sarampión.
- La leucoencefalopatía multifocal progresiva es una enfermedad rara, casi siempre letal del SNC, causada por el virus de JC de polioma en personas inmunodeprimidas.
- Las enfermedades por priones (encefalopatías espongiformes transmisibles) tienen su origen en agentes poco comunes que poseen propiedades de proteínas infectantes.
- Las enfermedades por priones en seres humanos incluyen kuru, CJD y variantes de ésta.
- Los priones son muy resistentes a la inactivación, incluido el uso de formaldehído, ebullición y radiación. Se inactivan por medio de blanqueadores y esterilización por autoclave.
- Las enfermedades neurológicas progresivas pueden mostrar periodos larguísimos de incubación que van de meses a años.

PREGUNTAS DE REPASO

1. El virus de la rabia se destruye con rapidez por:
   (A) Radiación ultravioleta
   (B) Calentamiento a 56 °C durante una hora
   (C) Tratamiento con éter
   (D) Tratamiento con tripsina
   (E) Todas las anteriores
2. Los priones se destruyen con facilidad mediante:
   (A) Radiación ionizante
   (B) Formaldehído
   (C) Ebullición
   (D) Proteasas
   (E) Ninguno de los anteriores
3. ¿De cuál de las siguientes infecciones del SNC es característica la presencia de cuerpos de inclusión citoplásmicos eosinófilos, denominados cuerpos de Negri, en las neuronas?

(A) Enfermedad de Borna
(B) Rabia
(C) Panencefalitis esclerosante subaguda
(D) Nueva variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
(E) Encefalitis posvacunal

4. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las vacunas contra la rabia en el ser humano es correcta?
(A) Contienen virus de la rabia vivos atenuados.
(B) Contienen múltiples tipos antigénicos del virus de la rabia.
(C) Pueden tratar casos clínicos de rabia.
(D) Se pueden utilizar sólo para la profilaxia previa a la exposición.
(E) Se asocian con síndrome de Guillain-Barre.

5. Un varón de 22 años de edad es residente de un pequeño pueblo cercano a Londres. Le gusta comer bistec. Presenta una enfermedad neurológica progresiva grave caracterizada por síntomas psiquiátricos, signos cerebelosos y demencia. Se diagnostica una probable encefalopatía espongiforme bovina (BSE). Una nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos y la BSE al parecer se deben al mismo agente etiológico. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es cierta respecto a las dos enfermedades?
(A) La inmunodepresión del hospedador es un factor predisponente.
(B) Es un trastorno neurológico degenerativo mediado por factores inmunitarios.
(C) Hay un largo periodo de incubación (meses a años desde el momento de la exposición hasta la aparición de los síntomas.
(D) El agente etiológico se puede aislar sólo en el SNC de un hospedador infectado.
(E) La respuesta de interferón persiste durante todo el periodo de incubación.
(F) Hay una respuesta de anticuerpo con concentraciones altas hacia la proteína PRP^{Sc} del agente.

6. El virus de la rabia tiene una amplia gama de hospedadores y la capacidad para infectar a todos los animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos. ¿Cuál aseveración sobre la epidemiología de la rabia humana es correcta?
(A) En África se presenta la mayor parte de los decesos por rabia.
(B) Las mordeduras de perro producen gran parte de los casos de rabia humana en Inglaterra.
(C) Los animales domésticos son la fuente de casi todos los casos de rabia humana en Estados Unidos.
(D) La transmisión de la rabia entre los seres humanos hace que el personal médico tenga un riesgo importante.
(E) La rabia de murciélago produjo la mayor parte de los casos de rabia humana en Estados Unidos en la década de 1990.

7. Se puede detectar el agente infeccioso causante de scrapie de las ovejas infecciosa en las placas de amiloide de cerebros infectados de ovejas y hámsteres. ¿Cuál de los siguientes tipos de ácido nucleico caracteriza al genoma del agente infeccioso?
(A) RNA monocatenario de polaridad negativa
(B) RNA de interferencia pequeño, el RNA infeccioso más pequeño conocido
(C) Copia de DNA del genoma de RNA, integrada en el DNA mitocondrial
(D) DNA circular monocatenario
(E) Ningún ácido nucleico detectable

8. Un varón de 49 años de edad acude al neurólogo después de dos días de presentar dolor creciente en el brazo derecho y parestesias. El neurólogo diagnosticó una neuropatía atípica. Los síntomas aumentaron y se acompañaron de espasmos de la mano y transpiración en el lado derecho de la cara y el tronco. Se ingresó al paciente en el hospital un día después de presentar disfagia, hipersalivación, agitación y espasmos musculares generalizados. Los signos vitales y las pruebas sanguíneas fueron normales, pero a las pocas horas el sujeto presentó confusión. El neurólogo interconsultor sospechó rabia. Se administró inmunoglobulina y vacuna contra la rabia y aciclovir. Al enfermo se le aplicó ventilación mecánica al siguiente día; presentó insuficiencia renal y falleció tres días más tarde. Los resultados del análisis de la rabia fueron positivos. La esposa del paciente informó que éste no había sufrido ninguna mordedura de perro o de animales salvajes. La explicación más plausible de la ineficacia del tratamiento es:
(A) Los resultados de la prueba de la rabia fueron positivos falsos y el sujeto no tenía rabia.
(B) El tratamiento se inició después de la aparición de los síntomas de rabia.
(C) La vacuna estaba dirigida contra la rabia del perro y el paciente estaba infectado con rabia del murciélago.
(D) No debió haberse administrado inmunoglobulina de la rabia pues interfirió con la vacuna.
(E) Los interferones (y no el esquema de tratamiento administrado) constituyen el régimen terapéutico de elección una vez que aparecen los síntomas de la rabia.

9. ¿Cuál de los siguientes animales se notifica como rabioso con más frecuencia en Estados Unidos?
(A) Ardillas
(B) Mapaches
(C) Conejos
(D) Cerdos
(E) Ratas

10. Un corredor notifica una "mordedura no provocada" de un perro de su vecindario. Las autoridades de control de animales capturaron al perro y tenía aspecto sano. ¿Cuál es la acción apropiada?
(A) Confinar y observar al perro durante 10 días para ver si presenta signos que indiquen rabia.
(B) Comenzar la profilaxia posexposición de la persona mordida.
(C) Sacrificar de inmediato al perro.
(D) En Estados Unidos se eliminó la rabia canina, por lo tanto, en ese país las mordeduras de perro ya no son una indicación para profilaxia, después de la exposición y no se necesita ninguna otra medida.
(E) Valorar al perro para ver si tiene anticuerpo contra la rabia.

11. La enfermedad por virus lento que en su patogenia tiene con mayor claridad como factor importante la inmunodepresión es:
(A) Leucoencefalopatía multifocal progresiva
(B) Panencefalitis esclerosante subaguda
(C) Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
(D) Scrapie de ovejas

12. El scrapie de ovejas y el kuru poseen todas las características siguientes, excepto
(A) Un cuadro histológico de encefalopatía espongiforme
(B) Capacidad de transmisión a animales vinculada con un periodo largo de incubación
(C) Deterioro de evolución lenta de la función cerebral
(D) Inclusiones intranucleares notables en los oligodendrocitos

13. Niño de cinco años de edad de San Francisco, Estados Unidos, intentó dentro de un automóvil manipular al perro de otra familia y éste le mordió en un dedo de la mano. Seis semanas después de la mordedura aparecieron fiebre, cefalea y una convulsión. Se tornó agresivo y mostró alucinaciones. De los estudios diagnósticos: ¿cuál es el mejor con objeto de descartar rabia como causa del cuadro clínico del paciente?

(A) Detección de anticuerpos antirrábicos en suero
(B) Cultivo de líquido cefalorraquídeo en busca de virus
(C) Tinción con anticuerpos fluorescentes directos de material de biopsia de piel obtenida de la nuca
(D) Biopsia de tejido encefálico
(E) Anticuerpo antirrábico en líquido cefalorraquídeo

14. De las afirmaciones siguientes respecto de la rabia y el virus homónimo, todas son correctas, excepto:
(A) El virus posee una cubierta de lipoproteína y su genoma es de RNA monocatenario.
(B) El virus tiene un solo tipo antigénico (serotipo).
(C) En Estados Unidos, el reservorio más común corresponde a los perros.
(D) El periodo de incubación suele ser largo (varias semanas) y no breve (varios días).

15. Varón de 20 años de edad que durante muchos años recibió cada día inyecciones de hormona de crecimiento preparada a partir de hipófisis de seres humanos, que comenzó a mostrar ataxia, balbuceo y demencia. En la necropsia, se advirtió degeneración neuronal extensa en el cerebro, un aspecto espongiforme por muchas vacuolas entre las neuronas, ausencia de inflamación y ningún signo de partículas virales. El diagnóstico más probable es:
(A) Encefalitis herpética
(B) Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
(C) Panencefalitis esclerosante subaguda
(D) Leucoencefalopatía multifocal progresiva
(E) Rabia

RESPUESTAS

1. E	6. E	11. A
2. E	7. E	12. D
3. B	8. B	13. C
4. D	9. B	14. C
5. C	10. A	15. B

BIBLIOGRAFÍA

Aguzzi A, Sigurdson C, Heikenwaelder M: Molecular mechanisms of prion pathogenesis. *Annu Rev Pathol* 2008;3:11.

Beisel CE, Morens DM: Variant Creutzfeldt-Jakob disease and the acquired and transmissible spongiform encephalopathies. *Clin Infect Dis* 2004;38:697.

Brew BJ, Davies NW, Cinque P, *et al.*: Progressive multifocal leukoencephalopathy and other forms of JC virus disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6:667.

Colby DW, Prusiner SB: De novo generation of prion strains. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:771.

Compendium of animal rabies prevention and control, 2011. National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(RR-6):1.

De Serres G, Dallaire F, Côte M, Skowronski DM: Bat rabies in the United States and Canada from 1950 through 2007: Human cases with and without bat contact. *Clin Infect Dis* 2008;46:1329.

Grard JG, Fair JN, Lee D, *et al.*: A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. *PLoS Med* 2012;8:e1002924.

Human rabies prevention—United States, 2008. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57(RR-3):1.

Lipkin WI, Briese T, Hornig M: Borna disease virus – fact and fantasy. *Virus Res* 2011;162:162.

Lyles DS, Rupprecht CE: Rhabdoviridae. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.

Mabbott NA, MacPherson GG: Prions and their lethal journey to the brain. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:201.

Priola SA: How animal prions cause disease in humans. *Microbe* 2008;3:568.

Rabies vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiol Record* 2010;85:309.

Rutala WA, Weber DJ: Creutzfeldt-Jakob disease: Recommendations for disinfection and sterilization. *Clin Infect Dis* 2001;32:1348.

CAPÍTULO

43

Virus que causan cáncer en el ser humano

Los virus son factores etiológicos en el desarrollo de diversos tipos de tumores en el ser humano, incluidos dos de gran importancia mundial: cáncer cervicouterino y cáncer hepático. Cuando menos 15 a 20% de todos los tumores humanos a nivel mundial tienen una causa viral. En el cuadro 43-1 se enumeran los virus que más se han vinculado con cánceres en el hombre. Éstos incluyen al papilomavirus humano (HPV), virus de Epstein-Barr (EBV), herpesvirus humano 8, virus de hepatitis B, virus de hepatitis C y dos retrovirus humanos, además de diversos virus que quizá causan cáncer en el hombre. Gracias a las técnicas moleculares ha sido posible descubrir nuevos virus vinculados con el cáncer. Muchos virus provocan tumores en los animales, ya sea como consecuencia de la infección natural o después de su inoculación experimental.

Los virus de los animales se estudian para conocer la manera cómo una pequeña cantidad de información genética (uno o unos cuantos genes virales) alteran profundamente el comportamiento de la proliferación celular, convirtiendo en definitiva a una célula normal en una célula neoplásica. Estos estudios revelan un entendimiento profundo sobre la regulación de la proliferación en las células normales. Los virus oncogénicos son aquellos que producen tumores cuando infectan a los animales adecuados. Se han realizado numerosos estudios utilizando células animales en cultivo en lugar de los animales completos, lo que permite analizar sucesos a nivel tanto celular como subcelular. En estos cultivos celulares, los virus oncógenos provocan una “transformación”. Sin embargo, es indispensable contar con estudios en animales para analizar muchos de los pasos en la carcinogénesis, incluida una serie de interacciones complejas entre los virus y el hospedador y las respuestas del hospedador a la formación de tumores.

Los estudios con virus de RNA oncógenos revelaron la participación de oncogenes celulares en las neoplasias; los virus de DNA oncógenos permitieron establecer la participación de los genes supresores de tumores celulares. Estos descubrimientos revolucionaron la biología del cáncer y proporcionaron el marco conceptual para la base molecular de la carcinogénesis.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CARCINOGÉNESIS VIRAL

Los principios de la carcinogénesis viral se resumen en el cuadro 43-2.

Los virus oncógenos son de diversos tipos

Al igual que otros virus, los virus oncogénicos se clasifican en diversas familias en función del ácido nucleico de su genoma y las características biofísicas de sus viriones. La mayor parte de los virus oncógenos conocidos posee un genoma de DNA o genera un provirus de DNA después de infectar a las células (una excepción es el virus de la hepatitis C).

Los virus de DNA oncógenos se clasifican dentro de los grupos papiloma, polioma, adeno, herpes, hepadna y poxvirus; codifican oncoproteínas virales que son importantes para la replicación viral, pero también repercuten en las vías que regulan la proliferación celular.

La mayor parte de los virus de RNA oncógenos pertenece a la familia de retrovirus. Los retrovirus poseen una RNA polimerasa dirigida por el RNA (transcriptasa inversa) que construye una copia de DNA del genoma viral de RNA. Esta copia de DNA (provirus) se integra en el DNA de la célula hospedadora infectada y a partir de esta copia integrada de DNA se forman todas las proteínas del virus.

Los virus de RNA oncógenos son de dos tipos generales según la inducción del tumor. Los virus altamente oncógenos (transformación directa) poseen un oncogén de origen celular. Los virus débilmente oncógenos (transformación lenta) no contienen un oncogén e inducen leucemias después de un periodo prolongado de incubación por mecanismos indirectos. Los dos retrovirus conocidos que causan cáncer en el ser humano actúan de manera indirecta. El virus de la hepatitis C, un flavivirus, no genera un provirus y al parecer induce el cáncer en forma indirecta.

Múltiples pasos de la carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso de pasos múltiples, es decir, se necesitan múltiples cambios genéticos para convertir a una célula normal en una maligna. Se han identificado varias fases intermedias designadas por medio de términos como “inmortalización”, hiperplasia y preneoplásica. Los tumores por lo general se desarrollan lentamente y por periodos largos. La historia natural de los cánceres tanto en seres humanos como en animales sugiere que se trata de un proceso que consta de varios pasos de evolución celular en el que quizá participa la inestabilidad genética celular y la selección repetitiva de células raras con cierta ventaja de crecimiento selectivo. Se calcula que este proceso provoca entre cinco y ocho mutaciones. Las observaciones sugieren que en la evolución de los tumores participa la activación de múltiples oncogenes celulares y la desactivación de una serie de genes supresores tumorales, participe o no un virus.

Al parecer el virus oncógeno actúa por lo general como cofactor, proporcionando únicamente algunos de los pasos necesarios para generar células malignas. Los virus son necesarios

apter 43_Carroll_4R.indd 619 15/04/16

CUADRO 43-1 Relación de los virus con cánceres en el ser humano[a]

Familia de virus	Virus	Cáncer en el ser humano
Papilomaviridae	Papilomavirus humano	Tumores genitales Carcinoma de células escamosas Carcinoma bucofaríngeo
Herpesviridae	Virus de Epstein-Barr	Carcinoma nasofaríngeo Linfoma de Burkitt Enfermedad de Hodgkin Linfoma de células B
	Herpesvirus humano 8	Sarcoma de Kaposi
Hepadnaviridae	Virus de hepatitis B	Carcinoma hepatocelular
Poliomaviridae	Virus de células de Merkel	Carcinoma de células de Merkel
Retroviridae	Virus linfotrópico T de humanos	Leucemia de células T de adultos
	Virus de la inmunodeficiencia humana	Malignidades asociadas a sida
Flaviviridae	Virus de hepatitis C	Carcinoma hepatocelular

[a] Los virus oncógenos humanos candidatos comprenden otros tipos de papilomavirus y poliomavirus.

CUADRO 43-2 Principios de la carcinogénesis viral

1. Los virus causan cáncer en animales y seres humanos
2. Los virus oncógenos a menudo establecen infecciones persistentes en sus hospedadores naturales
3. Los factores del hospedador constituyen elementos importantes para la oncogénesis viral
4. Los virus rara vez son completamente carcinógenos
5. Las infecciones virales son más frecuentes que los tumores causados por virus
6. Entre la infección viral inicial y la aparición del tumor, por lo general transcurre un periodo de latencia prolongado
7. Las cepas virales pueden diferir en su potencial oncógeno
8. Los virus son elementos carcinógenos ya sea de acción directa o indirecta
9. Los virus oncógenos modulan las vías reguladoras de la proliferación en las células
10. Los modelos animales pueden revelar los mecanismos de la carcinogénesis viral
11. Las células de los tumores casi siempre exhiben marcadores virales
12. Un virus puede causar varios tipos de tumores

Reproducido con autorización de Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21:405. Con autorización de Oxford University Press.

—pero no suficientes— para la formación de tumores de causa viral. Con frecuencia los virus actúan como iniciadores del proceso neoplásico y lo hacen a través de diversos mecanismos.

MECANISMOS MOLECULARES DE LA CARCINOGÉNESIS

Oncogenes celulares

"Oncogén" es el término generalizado para denominar a los genes que están involucrados en la causalidad del cáncer. A las versiones normales de estos genes transformantes que están presentes en las células normales se les ha denominado protooncogenes.

El descubrimiento de los oncogenes celulares ocurrió como resultado de estudios realizados con retrovirus transformantes agudos. Se encontró que las células normales contenían copias con alto grado de homología (pero no idénticas) a los genes transformantes agudos de diversos virus; las secuencias celulares habían sido capturadas e integradas en los genomas de los retrovirus. La transducción de los genes celulares posiblemente fue el resultado de un accidente, ya que la presencia de estas secuencias celulares no ocasiona ningún beneficio a los virus. Muchos otros de los oncogenes celulares conocidos que no han sido segregados dentro de vectores retrovirales se detectaron mediante el uso de técnicas moleculares.

Los oncogenes celulares son en parte responsables de las bases moleculares del cáncer humano. Representan componentes individuales de vías complejas encargadas de regular la proliferación celular, la división, la diferenciación y el mantenimiento de la integridad del genoma. La expresión incorrecta de cualquiera de estos componentes puede interrumpir la regulación, lo que da como resultado el crecimiento no controlado de las células (cáncer). Existen varios ejemplos; tal es el caso de la proteína cinasa específica de tirosina (p. ej., *src*), factores de crecimiento (*sis* es similar al factor de crecimiento derivado de plaquetas humano, que es un potente mitógeno para las células con origen en el tejido conjuntivo), receptores mutados para el factor de crecimiento (*erb*-B es un receptor truncado para el factor de crecimiento epidermal), proteínas de unión a GTP (Ha-*ras*), y factores de transcripción nuclear (*myc*, *jun*).

Los mecanismos moleculares responsables de la activación y conversión de un protooncogén benigno en un gen cancerígeno varían, pero todos conllevan daño genético. Dicho gen puede ser sobreexpresado, y en consecuencia se puede presentar un efecto importante de la dosis de la proteína sobreproducida del oncogén en los cambios en el crecimiento celular. Estos mecanismos pueden dar como resultado la activación constitutiva (pérdida de la regulación normal), por lo que el gen se expresa en un momento inadecuado durante el ciclo celular o en tipos de tejidos no apropiados. Las mutaciones pueden ocasionar que la interacción regulada en forma cuidadosa entre la proteína de un protooncogén con otras proteínas o ácidos nucleicos se pueda modificar. La inserción de un promotor retroviral adyacente a un oncogén celular puede ocasionar un aumento de la expresión de dicho gen (p. ej., "oncogénesis por inserción de promotor"). La expresión de un gen celular también puede aumentar por la acción de secuencias "aumentadoras" virales cercanas.

Genes supresores de tumores

Durante el desarrollo de tumores participa un segundo tipo de genes de cáncer humano. Éstos corresponden a los reguladores negativos del crecimiento celular, los genes supresores de tumores, que se identificaron gracias a que forman complejos con oncoproteínas de ciertos virus tumorales de DNA. Se requiere de la **inactivación** o la pérdida funcional de ambos alelos de tales genes para que se forme el tumor, contrario a la **activación** que ocurre con los oncogenes celulares. El prototipo de esta clase de genes inhibidores es el gen del retinoblastoma (*Rb*). La proteína Rb inhibe la entrada de las células a la fase S del ciclo celular al unirse a factores de transcripción

importantes que regulan la expresión de los genes durante dicha fase S. La función de la proteína Rb normal es a su vez regulada por procesos de fosforilación. La pérdida de la función del gen *Rb* se ha vinculado en forma causal al desarrollo del retinoblastoma, un tumor ocular poco común en niños, y con otros tumores humanos.

Otro gen supresor crucial es el gen *p53*, que también bloquea la progresión del ciclo celular; p53 actúa como un factor de transcripción y regula la síntesis de una proteína que inhibe la función de ciertas cinasas que regulan el ciclo celular. También ocasiona que las células que sufren daño en el DNA progresen a apoptosis. La pérdida de la función de p53 permite que las células avancen en el ciclo celular a pesar de que hayan sufrido daño al DNA, lo que eventualmente conduce a la acumulación de mutaciones genéticas. El gen *p53* se encuentra mutado en más del 50% de todos los cánceres humanos.

INTERACCIONES DE LOS VIRUS ONCÓGENOS CON SUS HOSPEDADORES

Infecciones persistentes

Para comprender la manera como el cáncer se origina en su entorno, es necesario conocer la patogénesis de una infección viral y la respuesta del hospedador. Los virus oncogénicos conocidos establecen infecciones persistentes y prolongadas en el hombre. A causa de una serie de diferencias en la susceptibilidad genética y respuesta inmunitaria individual, la magnitud de la multiplicación viral y los tropismos hísticos pueden variar entre las personas. A pesar de que en determinado momento muy pocas células en el hospedador se infectan, la cronicidad de la infección presenta una oportunidad prolongada para que se produzca un evento raro que permita la supervivencia de una célula con mecanismos reguladores de la proliferación que son modificados por el virus.

Respuestas inmunitarias del hospedador

Los virus que establecen infecciones persistentes deben evitar ser detectados y reconocidos por el sistema inmunitario que podría eliminar la infección. Se han identificado diversas estrategias de evasión viral, que incluyen expresión restringida de los genes virales, con lo que las células infectadas se hacen casi invisibles para el hospedador (EBV en las células B); infección en sitios relativamente inaccesibles a la respuesta inmunitaria (HPV en la epidermis); mutación de antígenos virales que permite evadir el reconocimiento de los anticuerpos y células T (virus de inmunodeficiencia humana [VIH]); modulación de las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad del hospedador en las células infectadas (adenovirus, citomegalovirus); inhibición del procesamiento de antígenos (EBV), e infección y supresión de las células inmunitarias indispensables (VIH).

Se cree que los mecanismos inmunitarios de vigilancia del hospedador eliminan por lo general a las pocas células neoplásicas que se originan en las personas sanas que sufren una infección por un virus oncógeno. Sin embargo, cuando el hospedador padece inmunodepresión, es más probable que las células neoplásicas proliferen y escapen al control inmunitario. Las personas con inmunodepresión para recibir trasplante de órganos y los individuos portadores del VIH tienen mayor riesgo de padecer linfomas por EBV y otras enfermedades vinculadas con el papilomavirus humano. Probablemente las variaciones individuales en las respuestas inmunitarias contribuyen a la predisposición para padecer tumores inducidos por virus en los hospedadores sanos.

Mecanismos de acción de los virus oncógenos para el humano

Los virus oncógenos controlan una serie de cambios de la conducta celular a través de una cantidad limitada de información genética. Esto se logra por medio de dos patrones generales: el virus oncógeno introduce un “gen transformante” nuevo en la célula (acción directa) o bien el virus modifica la expresión de uno o varios genes celulares preexistentes (acción indirecta). En cualquiera de los dos casos, la célula pierde el control de la regulación o la proliferación normal. A menudo se modifican las vías de reparación del DNA, lo que provoca inestabilidad genética y un fenotipo mutágeno.

Los virus no suelen comportarse como carcinógenos completos. Además de los cambios mediados por las funciones virales, se necesitan otras alteraciones para desactivar las vías reguladoras múltiples y puntos de vigilancia en las células normales para permitir que una célula se transforme por completo. No existe un solo método de transformación como base de la carcinogénesis viral. A nivel molecular, los mecanismos oncógenos de estos virus son diversos.

La transformación celular se puede definir como un cambio estable y hereditario en el control de la regulación de la proliferación de las células en cultivo. No existe un grupo de características que distinga de manera invariable a las células transformadas de sus contrapartes normales. En la práctica, la transformación se reconoce cuando la célula adquiere alguna propiedad de proliferación que no exhiben las células de donde se originan. La transformación en un fenotipo maligno se reconoce por la formación de un tumor cuando las células transformadas se inyectan en ciertos animales de laboratorio.

Los virus oncógenos que actúan de manera indirecta no pueden transformar células en cultivo.

Susceptibilidad celular a las infecciones y transformación viral

A nivel celular, las células del hospedador son permisivas o no permisivas para la replicación de determinado virus. Las células permisivas ayudan a la proliferación viral y la producción de una progenie viral. Las células no permisivas no lo hacen. Especialmente con los virus de DNA, las células permisivas a menudo son aniquiladas por la replicación viral y no se transforman a menos que se bloquee de alguna manera el ciclo de replicación viral que provoca la muerte de la célula hospedadora; las células no permisivas se pueden transformar. Sin embargo, existen casos en los que la replicación del virus del DNA no lisa a las células del hospedador y estas células se pueden transformar; no obstante, la transformación es bastante rara. Una propiedad característica de los virus de RNA oncógenos es que no son letales para las células en las que se

multiplican. Las células que son permisivas para un virus pueden ser no permisivas para otro.

No todas las células del hospedador natural son susceptibles a la replicación, transformación viral o ambas. La mayor parte de los virus oncógenos exhibe gran histoespecificidad, propiedad que quizá refleja la presencia variable de receptores de superficie para el virus, el potencial de éste de generar infecciones diseminadas contra infecciones locales o los factores intracelulares necesarios para la expresión de los genes virales.

Algunos virus producen un solo tipo de tumor, mientras que otros se han vinculado con múltiples tipos. Estas diferencias reflejan los tropismos hísticos de los virus.

Retención del ácido nucleico del virus oncógeno en una célula hospedadora

La transformación genética estable de una célula normal en una neoplásica por lo general requiere de la retención de genes virales en la célula. Con frecuencia, pero no siempre, esto se logra por medio de la integración de determinados genes virales en el genoma de la célula hospedadora. Con los virus de DNA oncógenos, una parte del DNA del genoma viral se integra en el cromosoma de la célula hospedadora. Algunas veces las células tumorales conservan copias episómicas del genoma viral. Con los retrovirus, la copia de DNA proviral del RNA viral se integra en el DNA de la célula hospedadora. Para el caso del virus de hepatitis C copias del genoma de RNA que no se integran se mantienen en las células tumorales.

En determinados sistemas virales, las células transformadas por virus pueden liberar factores del crecimiento que modifican el fenotipo de las células vecinas no infectadas, contribuyendo de esta manera a la formación de tumores. También es posible que conforme las células tumorales desarrollen el tumor acumulen mutaciones genéticas durante el crecimiento del tumor, lo cual desaparece la necesidad de tener genes virales que inciten la formación del tumor y algunas células pierden los marcadores virales.

VIRUS ONCÓGENOS DE RNA

VIRUS DE LA HEPATITIS B

El virus de hepatitis B (HBV) (capítulo 35) es miembro de la familia Hepadnaviridae y se caracteriza por viriones esféricos de 42 nm con un genoma circular de DNA bicatenario (3.2 kbp). Una cadena de DNA es incompleta y de longitud variable. El mayor obstáculo para estudiar el virus es que no se ha podido multiplicar en cultivo celular.

Además de producir hepatitis, el HBV es un factor de riesgo de desarrollo de cáncer hepático en el ser humano. Los estudios epidemiológicos y de laboratorio han comprobado que la infección persistente por el HBV es una causa importante de hepatopatía crónica y carcinoma hepatocelular. Las infecciones por el HBV en los adultos casi siempre se resuelven, pero las infecciones primarias en los recién nacidos y niños pequeños tienden a la cronicidad hasta en 90% de los casos. Estas infecciones persistentes por el HBV que atacan desde el principio de la vida aumentan el riesgo de padecer carcinoma hepatocelular más adelante. Se desconoce el mecanismo de la oncogénesis. La infección viral persistente provoca necrosis, inflamación y regeneración hepática que, con el tiempo, generan cirrosis; en este contexto se origina un carcinoma hepatocelular. La proteína transactivadora del HBV, proteína X, es potencialmente una oncoproteína viral potencial. El carcinógeno alimenticio aflatoxina quizá es un cofactor para el carcinoma hepatocelular, en particular en África y China.

El advenimiento de una vacuna eficaz contra la hepatitis B para evitar la infección primaria despertó la posibilidad de prevenir el carcinoma hepatocelular, en especial en las áreas del mundo donde la infección por el HBV es hiperendémica (p. ej., África, China, sureste asiático). Veinte años después de iniciado el programa universal de vacunación contra la hepatitis B en Taiwán, la frecuencia de hepatitis B crónica y cáncer hepático se han reducido de forma considerable.

Las marmotas constituyen un modelo excelente para el estudio de la infección por el HBV en el hombre. Un virus similar, el virus de hepatitis de la marmota, tanto en la marmota recién nacida como en la adulta produce una infección crónica, y muchas de ellas desarrollan carcinoma hepatocelular en los siguientes tres años.

VIRUS DE LA HEPATITIS C

El virus de la hepatitis C (HCV) (capítulo 35) es miembro de la familia Flaviviridae y contiene un genoma de RNA monocatenario de 9.4 kilobases. Al parecer la mayor parte de las infecciones es persistente, incluso en los adultos. La infección crónica con el HCV lleva a inflamación crónica y cirrosis, y también se le considera como un agente causal del carcinoma hepatocelular. Muy posiblemente el desarrollo de este carcinoma es el resultado de la combinación del virus con mecanismos específicos del hospedador. Existen más de 170 millones de individuos portadores crónicos del virus de la hepatitis C, y probablemente 1 a 5% de ellos desarrollará carcinoma hepatocelular.

Actualmente hay en el mundo alrededor de 350 millones de personas infectadas en forma persistente con el HBV, situación que ocasiona más de 500 000 muertes anuales por carcinoma hepatocelular.

RETROVIRUS

Los retrovirus contienen un genoma de RNA y una DNA polimerasa dirigida por RNA (transcriptasa inversa). Los virus de RNA oncógenos en esta familia generan principalmente tumores de los sistemas reticuloendotelial y hematopoyético (leucemias, linfomas) o del tejido conjuntivo (sarcomas).

En el cuadro 43-3 se enumeran las propiedades más importantes de los retrovirus.

Estructura y composición

El genoma del retrovirus consta de dos subunidades idénticas de RNA efector monocatenario, de polaridad positiva, cada

CUADRO 43-3 Propiedades importantes de los retrovirus

Virión: esférico, 80 a 110 nm de diámetro, nucleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica	
Composición: RNA (2%), proteína (alrededor de 60%), lípidos (cerca al 35%), carbohidratos (cerca al 3%)	
Genoma: RNA monocatenario, lineal, efector, 7 a 11 kb, diploide, en ocasiones defectuoso; en ocasiones transporta un oncogén	
Proteínas: enzima transcriptasa inversa contenida en el virión	
Cubierta: presente	
Replicación: la transcriptasa inversa hace una copia del DNA a partir del RNA genómico; el DNA (provirus) se integra en el cromosoma celular; el provirus es la plantilla para el RNA viral	
Maduración: los viriones brotan de la membrana plasmática	
Características principales: Las infecciones no aniquilan células En ocasiones traduce oncogenes celulares, otras veces activa la expresión de genes celulares Los provirus permanecen ligados de manera permanente a las células y a menudo no se expresan Muchos miembros son virus oncógenos	

una de 7 a 11 kilobases. La transcriptasa inversa contenida en las partículas virales es indispensable para la replicación viral.

Las partículas de retrovirus contienen ribonucleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica rodeada por una membrana externa (envoltura) que contiene glucoproteínas y lípidos. Las glucoproteínas de la envoltura viral son antígenos específicos para cada tipo o subgrupo y son codificadas por el gen *env*. Los antígenos específicos para cada grupo se ubican en el centro del virión y son codificados por el gen *gag*.

Se conocen tres clases morfológicas de retrovirus extracelulares —así como una variedad intracelular— con base en la microscopia electrónica. Estos estudios reflejan procesos ligeramente distintos de morfogenénesis en diferentes retrovirus. En la figura 43-1 se muestran algunos ejemplos.

Las partículas tipo A sólo existen dentro de la célula y al parecer no son infecciosas. Las partículas intracitoplásmicas tipo A, que miden 75 nm de diámetro, son precursoras de los virus extracelulares tipo B, mientras que las partículas intracisternales tipo A, de 60 a 90 nm de diámetro, son entidades desconocidas. Los virus tipo B miden de 100 a 130 nm de diámetro y contienen un nucleoide excéntrico. El prototipo de este grupo es el virus que causa el cáncer de mama en el ratón, que aparece en las cepas "con gran cantidad de cáncer mamario" de ratones endogámicos y abunda especialmente en el tejido mamario lactante y la leche. Se transfiere fácilmente a los ratones lactantes, en los cuales la frecuencia de adenocarcinoma mamario ulterior es elevada. Los virus tipo C constituyen el grupo más grande de retrovirus. Las partículas miden entre 90 y 110 nm de diámetro y sus nucleoides electrodensos tienen una ubicación central. Los virus tipo C son entidades endógenas o exógenas (véase más adelante). Los lentivirus también son virus tipo C. Por último, los retrovirus tipo D están poco caracterizados. Las partículas miden entre 100 a 120 nm de diámetro, contienen un nucleoide excéntrico y exhiben espículas en la superficie que son más cortas que las de las partículas tipo B.

Clasificación

A. Género

La familia Retroviridae se divide en siete géneros: *Alfa-retrovirus* (que comprende a los virus de la leucosis aviar y de sarcoma), *Beta-retrovirus* (virus causales de tumor mamario en ratones), *Gama-retrovirus* (virus de leucemia y sarcoma en mamíferos), *Delta-retrovirus* (virus linfotrópico T humano [HTLV] y virus de leucemia bovina), *Epsilonretrovirus* (virus de peces), *Spumavirus* (que comprende a los virus que causan degeneración "espumosa" de las células inoculadas pero que no se han relacionado con alguna enfermedad conocida) y *Lentivirus* (que comprende agentes que causan infecciones crónicas con deficiencias neurológicas lentamente progresivas, incluido al VIH; capítulo 44).

Los retrovirus se organizan de diversas formas según sus propiedades morfológicas, biológicas y genéticas. A menudo se utilizan sus diferencias en cuanto a las secuencias del genoma y la gama de hospedadores naturales, pero no las propiedades antigénicas. Los retrovirus se pueden agrupar desde el punto de vista morfológico (tipos B, C y D); la mayor parte de las cepas aisladas exhibe características del tipo C.

B. Hospedador de origen

Se han aislado retrovirus a partir de casi todas las especies de vertebrados. Por lo general las infecciones naturales producidas por determinado virus se limitan a una sola especie, aunque también existen algunas infecciones entre especies. Los virus de la misma especie hospedadora comparten determinantes antigénicos específicos para cada grupo en la proteína interna principal (central). Los virus de mamífero son más afines entre sí que los de las especies aviares.

Los virus de RNA oncógenos más estudiados en forma experimental son los virus del sarcoma de pollos y ratones y los virus de leucemia de ratones, gatos, pollos y seres humanos.

C. Exógenos o endógenos

Los retrovirus exógenos se propagan en forma horizontal y se comportan como microorganismos infecciosos típicos. Inician la infección y la transformación únicamente después del contacto. A diferencia de los virus endógenos, que se encuentran en todas las células de los individuos que forman determinada especie, las secuencias genéticas de los virus exógenos se encuentran exclusivamente en las células infectadas. Al parecer todos los retrovirus patógenos son exógenos.

Los retrovirus también se pueden propagar en sentido vertical a través de la línea germinativa. La información genética viral que forma parte constante de la constitución genética de un organismo se denomina "endógena". Un provirus retroviral integrado se comporta como conjunto de genes celulares y está sujeto al control de la regulación celular, que casi siempre tiene como resultado la represión parcial o completa de la expresión del gen viral. Su ubicación en el genoma celular y la presencia de factores correspondientes de transcripción celular determinan en gran parte si (y cuando) se activa la expresión viral. Con cierta frecuencia las células normales mantienen una infección viral endógena latente durante periodos prolongados.

Muchos vertebrados, incluido el ser humano, poseen múltiples copias de secuencias endógenas de virus de RNA. Estas

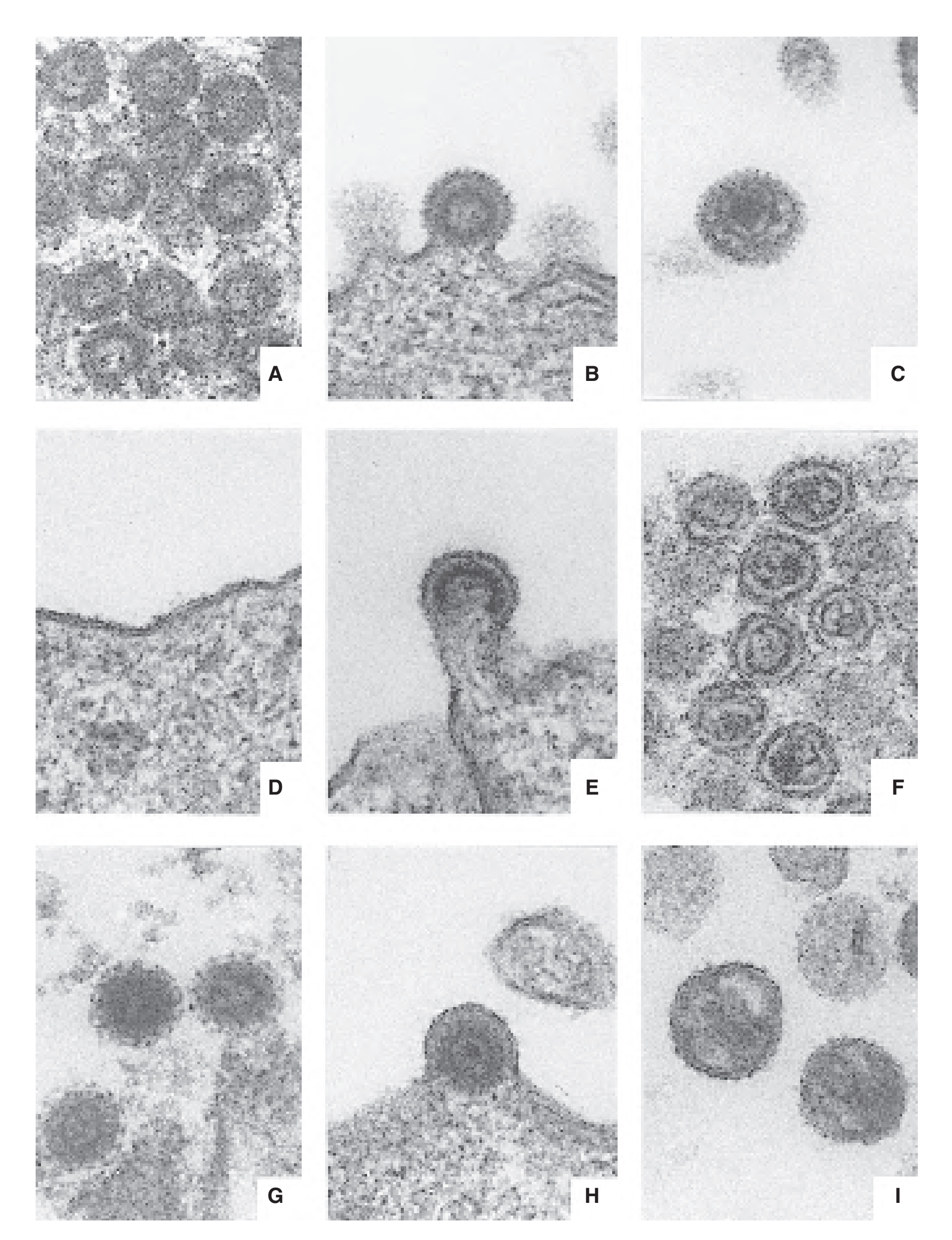


FIGURA 43-1 Morfología comparativa de los retrovirus tipos A, B, C y D. **A:** Partículas intracitoplásmicas tipo A (que representan al precursor inmaduro del virus tipo B gemado). **B:** Gemación del virus tipo B naciente. **C:** Virus tipo B extracelular maduro. **D:** Ausencia de una estructura intracitoplásmica reconocible desde el punto de vista morfológico de un virus tipo C. **E:** Gemación del virus tipo C. **F:** Virus tipo C extracelular maduro. **G:** Partícula intracitoplásmica tipo A (que representa al precursor inmaduro de un virus tipo D). **H:** Gemación del virus tipo D. **I:** Virus tipo D extracelular maduro. Las microfotografías son de aproximadamente 87 000 x. Los cortes delgados se tiñeron doblemente con acetato de uranilo y citrato de plomo. (Cortesía de D Fine y M Gonda.)

secuencias endógenas al parecer no ofrecen beneficios al animal. Sin embargo, los provirus endógenos de los virus que causan tumores mamarios que son transportados en cepas de ratones expresan actividades de superantígeno que repercuten en los repertorios de células T de los animales.

Los virus endógenos suelen no ser patógenos para sus animales hospedadores. No causan ninguna enfermedad y no pueden transformar las células en cultivo. (Existen ejemplos de enfermedad causada por replicación de virus endógenos en cepas de ratones.)

Las características más importantes de los virus endógenos son las siguientes: 1) las copias de DNA de los genomas de los virus de RNA oncógenos se unen de manera covalente al DNA celular y existen en todas las células somáticas y germinativas del hospedador; 2) los genomas de los virus endógenos se transmiten de padres a hijos; 3) el estado integrado obliga a que los genomas de los virus endógenos estén bajo control genético, y 4) es posible inducir virus endógenos para que se multipliquen ya sea en forma espontánea o por medio del tratamiento con factores extrínsecos (químicos).

D. Gama de hospedadores

Uno de los principales factores que define la gama de hospedadores de un retrovirus es la presencia o ausencia de un receptor apropiado en la superficie celular. La infección empieza por

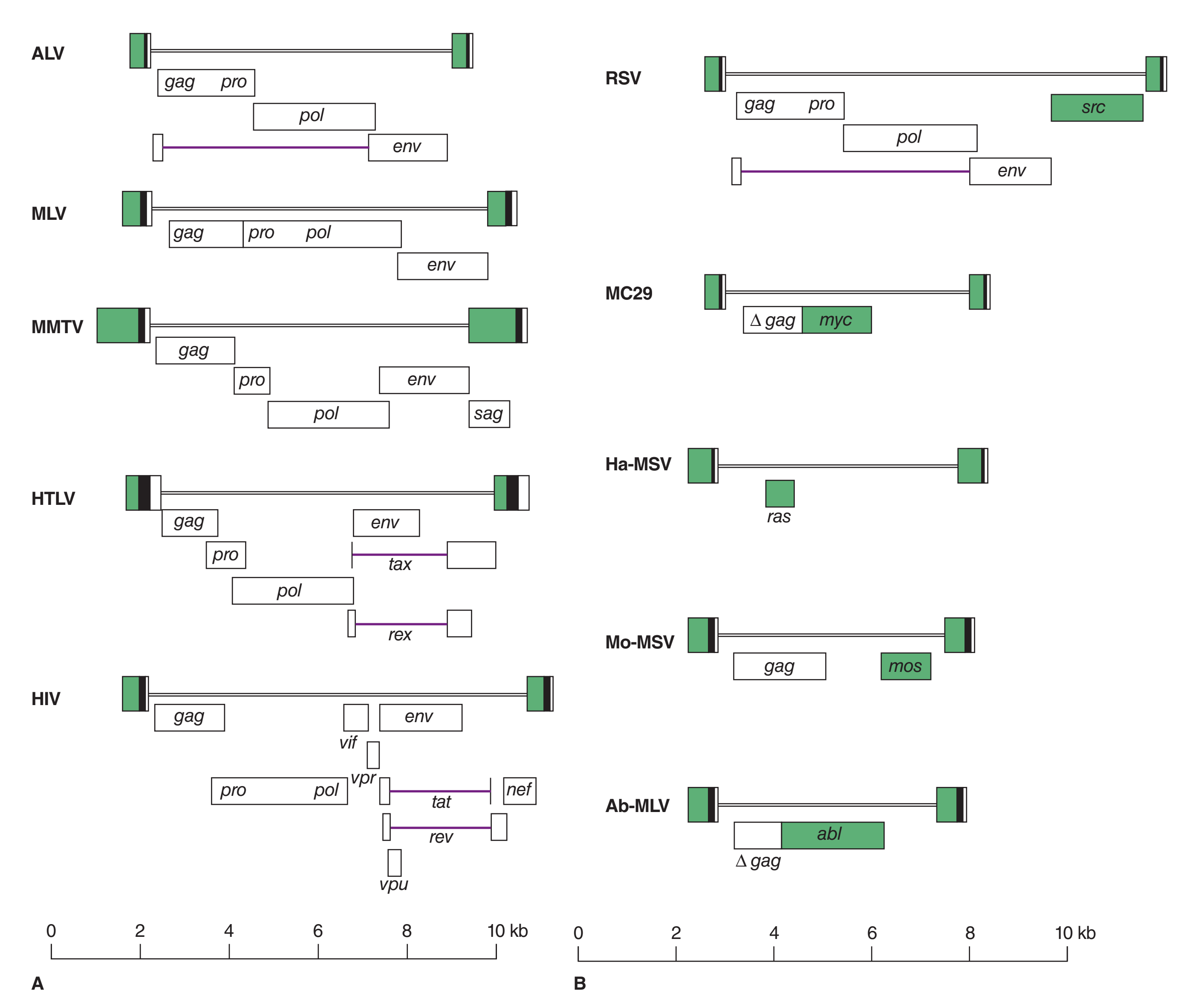


FIGURA 43-2 Organización genética de los retrovirus representativos. **A:** Virus no defectuoso que se puede replicar. Se muestran ejemplos de retrovirus con genomas simples y complejos. Un rectángulo vacío muestra un marco de lectura abierto para el gen indicado. Si los rectángulos están en forma vertical, sus marcos de lectura difieren. Las líneas horizontales que conectan a dos rectángulos indican que este segmento se empalma. **Genomas simples:** ALV, virus de la leucosis aviar (*Alfa-retrovirus*); MLV, virus de leucemia murina (*Gama-retrovirus*); MMTV, virus de tumor mamario en ratones (*Beta-retrovirus*). **Genomas complejos:** VIH, virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (*Lentivirus*); HTLV, virus linfotrópico T humano (*Delta-retrovirus*). **B:** Virus portadores de oncogenes. Se muestran varios ejemplos y los oncogenes se han sombreado; todos son defectuosos excepto RSV. Ab-MLV, virus de leucemia murina de Abelson (oncogén *abl*) (*Gama-retrovirus*); Ha-MSV, virus de sarcoma murino de Harvey (oncogén *ras*) (*Gama-retrovirus*); MC29, virus de mielocitomatosis aviar (oncogén *myc*) (*Alfa-retrovirus*); Mo-MSV, virus de sarcoma murino de Moloney (oncogén *mos*) (*Gama-retrovirus*); RSV, virus del sarcoma de Rous (oncogen *src*) (*Alfa-retrovirus*); En la parte inferior de cada recuadro se muestra la escala para comparar el tamaño de los genomas. (Modificado con autorización de Vogt VM: Retroviral virions and genomes. En: Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE [editores]. *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratoy Press, 1997.)

una interacción entre la glucoproteína de la envoltura viral y el receptor de la superficie celular. Los virus **ecotrópicos** infectan y se multiplican únicamente en células de animales de la especie hospedadora original. Los virus **anfotrópicos** tienen una gran variedad de hospedadores (pueden infectar células no sólo de los hospedadores naturales, sino también de especies heterólogas) puesto que reconocen a un receptor de distribución amplia. Los virus **xenotrópicos** se multiplican en algunas células heterólogas (extrañas) pero no en las células del hospedador natural. Muchos virus endógenos tienen una gama xenotrópica de hospedadores.

E. Contenido genético

Los retrovirus tienen un contenido genético simple, pero existen algunas variaciones en cuanto al número y tipo de genes contenidos. La composición genética de un virus repercute en sus propiedades biológicas. La estructura genómica es un método útil para clasificar a los virus de RNA oncógenos (figura 43-2).

Los virus tradicionales de la leucemia (*Alfa-retrovirus* y *Gama-retrovirus*) contienen genes necesarios para la replicación viral: *gag*, que codifica las proteínas centrales (antígenos específicos para grupos); *pro*, que codifica una enzima proteasa;

pol, que codifica la enzima transcriptasa inversa (polimerasa), y *env*, que codifica las glucoproteínas que forman proyecciones en la envoltura de la partícula. El orden de los genes en todos los retrovirus es *5′-gag-pro-pol-rnv-3′*.

Algunos virus, ejemplificados por los retrovirus humanos (*Delta-retrovirus* y *Lentivirus*) contienen otros genes río abajo después del gen *env*. Uno es un gen regulador transactivador (*tax* o *tat*) que codifica una proteína no estructural que altera la eficacia de la transcripción o traducción de otros genes virales. Los lentivirus, incluido el VIH, poseen un genoma más complejo y contienen varios genes accesorios adicionales (capítulo 44).

Los retrovirus con cualquiera de estas dos estructuras genómicas serán aptos para la replicación (en las células correspondientes). Puesto que carecen de un gen transformante (*onc*), no pueden transformar a las células en un cultivo de tejido. Sin embargo, pueden transformar células precursoras en tejidos hematopoyéticos *in vivo*.

Los retrovirus que transforman directamente, poseen un gen *onc*. Los genes transformantes que poseen diversos virus de RNA oncógenos representan genes celulares que han sido apropiados por esos virus en algún momento lejano e incorporados en sus genomas (figura 43-2).

Estos virus son altamente oncógenos en los animales hospedadores apropiados y pueden transformar células en cultivo. Con muy pocas excepciones, la adición del DNA celular provoca pérdida de porciones del genoma viral. Por lo tanto, los virus que causan sarcoma casi siempre tienen defectos de la replicación; únicamente producen progenie en presencia de virus auxiliares. Éstos casi siempre son otros retrovirus (virus de leucemia) que se recombinan de diversas formas con los virus defectuosos. Estos retrovirus transformantes defectuosos son el origen de muchos de los oncogenes celulares conocidos.

F. Potencial oncógeno

Los retrovirus que contienen oncogenes son altamente oncógenos. Algunas veces se les llama microorganismos “transformantes agudos” puesto que inducen la formación de tumores *in vivo* después de periodos de latencia cortos e inducen rápidamente transformación de las células *in vitro*. Los virus que no poseen un oncogén tienen un potencial oncógeno mucho menor. La enfermedad (casi siempre de las células sanguíneas) aparece después de un periodo de latencia prolongado (es decir, “transformación lenta”); las células en cultivo no se transforman.

En breve, la transformación neoplásica que generan los retrovirus es resultado de un gen celular que normalmente se expresa a un nivel reducido y bien regulado que se activa y expresa de fondo. En el caso de los virus transformantes agudos, un gen celular se ha introducido por recombinación en el genoma viral y se expresa como gen bajo el control del promotor viral. En el caso de los virus transformantes lentos que causan leucemia, el promotor o elemento potenciador del virus se introduce adyacente o cerca del gen celular en el cromosoma de la célula.

Replicación de los retrovirus

En la figura 43-3 aparece el esquema de un ciclo típico de replicación retroviral representada por el virus linfotrópico T humano (HTLV). El gen *pol* codifica a la proteína polimerasa (transcriptasa inversa) con cuatro actividades enzimáticas (proteasa, polimerasa, RNAasa H, e integrasa). Una vez que las partículas virales se han adsorbido y penetrado en las células hospedadoras, el RNA viral sirve como molde para la síntesis de DNA viral a través de la acción de la enzima viral transcriptasa inversa, que funciona como DNA polimerasa dependiente del RNA. Por medio de un proceso complejo, las secuencias de ambos extremos del RNA viral se duplican, formando la repetición terminal larga ubicada en cada extremo del DNA viral (figura 43-4). Estas repeticiones terminales largas existen únicamente en el DNA viral. Este DNA en cuestión recién formado se integra en el DNA de la célula hospedadora como provirus. La estructura del provirus es constante, pero su integración en los genomas de la célula hospedadora ocurre en distintos sitios. La orientación precisa del provirus después de la integración se logra por medio de secuencias específicas en los extremos de ambas repeticiones terminales largas.

De esta manera, los genomas de la progenie viral se pueden transcribir del provirus de DNA en el RNA viral. La secuencia U3 en la repetición terminal larga contiene tanto un promotor como un potenciador. El potenciador ayuda a conferir especificidad hística a la expresión viral. La transcripción del DNA proviral está a cargo de la enzima del hospedador RNA polimerasa II. Los transcritos de longitud completa (sellados, poliadenilados) sirven como RNA genómico para la encapsidación de la progenie en viriones. Algunos transcritos son procesados y los mRNA subgenómicos son traducidos para producir proteínas precursoras virales que son modificadas y desdobladas para formar los productos proteínicos finales.

Cuando el virus contiene un gen transformante, el oncogen no participa en la replicación. Esto es a diferencia de los virus de DNA oncógenos, en los cuales los genes transformantes también son genes esenciales para la replicación viral.

Las partículas de virus se ensamblan y emergen de la célula hospedadora infectada por gemación de las membranas plasmáticas. A continuación la proteasa viral desdobla a las proteínas Gag y Pol de la poliproteína precursora, generando un virión infeccioso maduro preparado para la transcripción inversa cuando se infecta la siguiente célula.

Una característica sobresaliente de los retrovirus es que no son citolíticos, es decir, no destruyen a las células en que se multiplican. La excepción son los lentivirus, que en ocasiones son citolíticos (capítulo 44). El provirus permanece integrado dentro del DNA celular durante la vida de la célula. No se conoce método para curar a una célula de una infección crónica por retrovirus.

Retrovirus humanos

A. Virus linfotrópicos humanos de linfocitos T

Muy pocos retrovirus producen tumores en el ser humano. El grupo de retrovirus HTLV quizá ha existido en nuestra especie desde hace miles de años. Se sabe que el HTLV-1 es el agente causal de la leucemia-linfoma de células T del adulto (ATL; *adult T cell leukemia-lymphomas*) además de una enfermedad degenerativa del sistema nervioso llamada paraparesia espástica tropical. No posee un oncogén. Se han aislado tres virus humanos afines HTLV-2, HTLV-3 y HTLV-4, pero no se

Partícula de HTLV
Receptor GLUT-13
Penetración de la cápside
Transcripción inversa en el núcleo viral
RNA
cDNA
dsDNA
Integración
Núcleo
Citoplasma
DNA celular
Provirus
Transcripción
mRNA
RNA genómico
Traducción
Proteínas
Ensamble
Maduración
Gemación

FIGURA 43-3 Aspectos generales del ciclo de réplica del virus linfotrópico T de humanos (HTLV). La partícula viral se adhiere a un receptor de la superficie celular y la cápside viral penetra en la célula. La enzima viral transcriptasa inversa produce una copia de DNA a partir del genoma de RNA dentro de la cápside en el citoplasma. El DNA penetra al núcleo y se integra de manera aleatoria con el DNA celular, formando el provirus. Los provirus integrados sirven como plantilla para la síntesis de transcripciones virales algunas de las cuales no se empalman y se encapsidan como RNA genómico y otros, algunos de los cuales son empalmados, sirven como mRNA. Se sintetizan las proteínas virales; los genomas de RNA y proteínas se ensamblan, y brotan partículas a partir de la célula por gemación. Las proteínas de la cápside se transforman por medio de proteólisis a través de la proteasa viral produciendo viriones maduros e infecciosos, que se muestran en el esquema como conversión de un cuadrado en un núcleo icosaédrico. (Cortesía de SJ Marriot.)

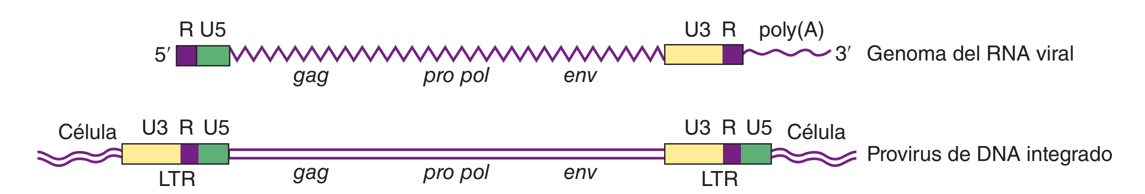


FIGURA 43-4 Comparación de las estructuras de genomas de RNA retrovirales y el DNA proviral integrado. Una partícula viral contiene dos copias idénticas del genoma de RNA monocatenario. El extremo 5′ está marcado, y el extremo 3′ está poliadenilado. Una secuencia corta R, está repetida en ambos extremos; existen secuencias únicas localizadas cerca del extremo 5′ (U5) y en el extremo 3′ (U3). El U3 contiene secuencias del promotor y del potenciador. El provirus de DNA integrado, está flanqueado en cada uno de los extremos por las estructuras denominadas repeticiones terminales largas (LTR) generadas durante la síntesis de la copia del DNA por transcripción inversa. Cada repetición terminal larga contiene secuencias U3, R y U5. Las repeticiones terminales largas y las regiones codificantes del genoma retroviral no están esquematizadas a escala.

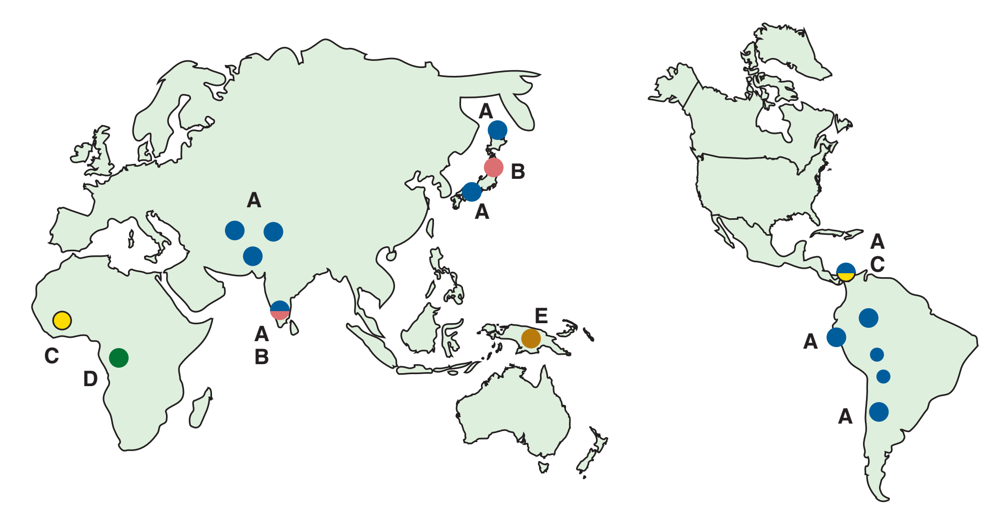


FIGURA 43-5 Los subtipos de HTLV-1 tienen una distribución geográfica en forma de focos endémicos. **A:** Japón, India, región del Caribe y los Andes. **B:** Japón e India. **C:** África occidental y región del Caribe. **D:** África Central. **E:** Papúa Nueva Guinea. (Cortesía de N Mueller.)

ha podido vincular de manera concluyente a alguno de ellos con una enfermedad específica. Ambas variantes, HTLV-1 y HTLV-2, comparten cerca de 65% de la homología de secuencia y exhiben una reactividad cruzada serológica considerable.

Los virus linfotrópicos humanos tienen gran afinidad por las células T maduras. HTLV-1 se expresa muy poco en las personas infectadas. Al parecer, las secuencias del promotor-potenciador viral en la repetición terminal larga, responden a ciertas señales vinculadas con la activación y proliferación de las células T. De ser así, la replicación de los virus quizá está ligada a la replicación de las células hospedadoras, estrategia que aseguraría la propagación eficaz del virus.

Los retrovirus humanos son transreguladores (figura 43-2). Poseen un gen *tax*, cuyo producto modifica la expresión de otros genes virales. Se cree que los genes reguladores transactivadores son necesarios para la replicación viral *in vivo* y que muchos de ellos contribuyen a la oncogénesis al modular además a los genes celulares que regulan la proliferación celular.

Existen varios subtipos genéticos de HTLV-1 pero los principales son A, B y C (éstos no representan serotipos diferentes).

El virus es de distribución mundial y se calcula que existen entre 10 y 20 millones de individuos infectados. En determinadas regiones geográficas (sur de Japón, Melanesia, el Caribe, Centroamérica, Sudamérica y algunas regiones de África) se observan cúmulos de enfermedades causadas por HTLV (figura 43-5). Menos de 1% de la población a nivel mundial tiene anticuerpos contra HTLV-1, pero incluso 5% de tal población en áreas endémicas puede ser seropositiva.

La ATL responde poco al tratamiento. La supervivencia a cinco años de los pacientes con este cáncer es menor al 5 por ciento.

Aparentemente la transmisión de HTLV-1 se lleva a cabo a través del virus asociado a las células. Una ruta importante es la transmisión de madre a hijo a través de la leche materna. Se calcula que la eficacia de la transmisión de una madre infectada a su hijo es de 15 a 25%. Estas infecciones en etapas tan tempranas de la vida son las que tienen mayor riesgo de producir leucemia-linfoma de células T del adulto. Las transfusiones sanguíneas son otro método efectivo de transmisión, así como el hecho de compartir agujas contaminadas con sangre (usuarios de drogas inyectables) y por relaciones sexuales.

La seroepidemiología ha vinculado la infección con HTLV-1 a un síndrome llamado mielopatía/paraparesia espástica tropical ligada a HTLV-1 (HAM/TSP). La característica clínica principal de esta enfermedad es la debilidad progresiva de las extremidades inferiores y la parte inferior del cuerpo. Las facultades mentales del paciente permanecen intactas. Se dice que la HAM/TSP es de la misma magnitud e importancia en el trópico que la esclerosis múltiple en los países occidentales. Otras enfermedades relacionadas con HTLV-1 incluyen uveítis y dermatitis infecciosa.

B. Virus de inmunodeficiencia humana

Se ha definido que un grupo de retrovirus humanos causan el sida (capítulo 44). Los virus de inmunodeficiencia humana son citolíticos, no transformantes y se les clasifica como lentivirus. Sin embargo, las personas con sida muestran un elevado riesgo de presentar algunos tipos de cáncer, por la inmunodeficiencia vinculada con la infección por el VIH; las neoplasias en cuestión incluyen cáncer cervicouterino, sarcoma de Kaposi, linfomas, cánceres de cabeza y cuello, de hígado y de la cavidad oral.

C. Otros

Los virus espumosos del simio del género *Spumavirus* son muy frecuentes en los primates no humanos en cautiverio. En ocasiones, el hombre se infecta con virus espumosos cuando tiene contacto con primates, pero estas infecciones no han generado ninguna enfermedad reconocida.

VIRUS DE DNA ONCÓGENOS

Existen diferencias fundamentales entre los oncogenes de los virus de DNA y virus de RNA oncógenos. Los genes transformantes que poseen los virus de DNA oncógenos codifican funciones necesarias para la replicación viral y no tienen homólogos normales en las células. Por el contrario, los retrovirus pueden tener oncogenes celulares transducidos que no participan en la regulación viral o que actúan a través de

CUADRO 43-4 Ejemplos de oncoproteínas de virus de DNA e interacciones con las proteínas celulares[a]

Virus	Oncoproteínas virales	Objetivos celulares
Poliomavirus SV40	Antígeno T grande Antígeno t pequeño	P53, pRb PP2A
Papilomavirus humano	E6 E7	P53, DLG, MAGI-1, MUPP1 pRb
Papilomavirus bovino	E5	Receptor PDGFβ
Adenovirus	E1A E1B-55K	pRb p53
Adenovirus 9	E4ORF1	DLG, MAGI-1, MUPP1
Herpesvirus EBV	LMP1	TRAF

[a] DLG, MAGI-1 y MUPP1 son miembros de una familia de proteínas celulares que contienen dominios PDZ; EBV, virus de Epstein-Barr; p53, producto del gen *p53;* PDGF, factor de crecimiento derivado de plaquetas; PP2A, proteína fosfatasa 2A; pRb, producto del gen de retinoblastoma; TRAF, factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral.

mecanismos indirectos. Las proteínas transformadoras de los virus de DNA forman complejos con las proteínas normales de la célula modificando su función. Para poder comprender el mecanismo de acción de las proteínas transformadoras de los virus de DNA es importante identificar los elementos de la célula con los que interactúan. En el cuadro 43-4 se muestran algunos ejemplos de estas interacciones.

POLIOMAVIRUS

En el cuadro 43-5 se describen las propiedades más importantes de los poliomavirus.

Clasificación

La familia Poliomaviridae comprende un solo género llamado *Poliomavirus*, que antiguamente formaba parte de la familia Papovaviridae (que ya no existe).

CUADRO 43-5 Propiedades importantes de los poliomavirus[a]

Virión: icosaédrico, 45 nm de diámetro
Composición: DNA (10%), proteínas (90%)
Genoma: DNA bicatenario, circular, 5 kbp,
Proteínas: tres proteínas estructurales; las histonas celulares condensan el DNA en el virión
Cubierta: ninguna
Replicación: núcleo
Características principales: Estimula la síntesis de DNA celular Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares Prototipos importantes de virus oncógenos Los virus de seres humanos pueden causar neuropatías y nefropatías en personas En ocasiones provocan cáncer en el ser humano

[a] Antiguamente clasificado dentro de la familia Papovaviridae.

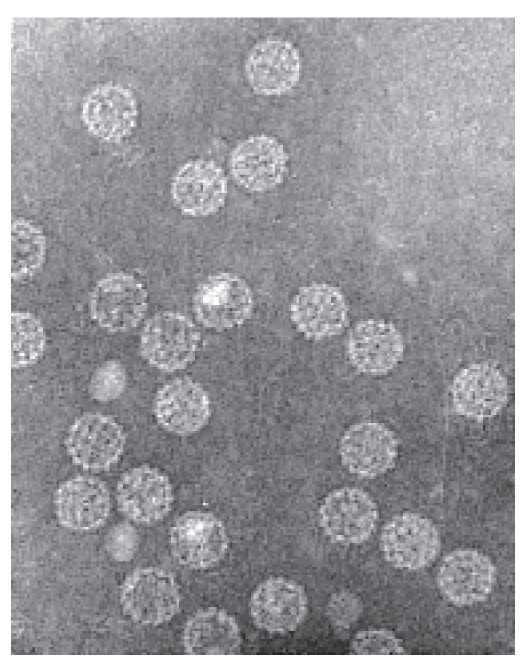


FIGURA 43-6 Poliomavirus SV40. Preparación purificada, con tinción negativa a base de fosfotungstato (150 000x). (Cortesía de S Mc Gregor y H Mayor.)

Los poliomavirus son pequeños (diámetro de 45 nm) y poseen un genoma circular de DNA bicatenario (5 kbp; PM de 3×10^6) dentro de una cápside sin cubierta con simetría icosaédrica (figura 46-3). Las histonas celulares se utilizan para condensar al DNA viral dentro de las partículas de virus.

Los poliomavirus son virus simples que contienen DNA y que poseen una cantidad limitada de información genética (seis o siete genes). Se han identificado múltiples especies, que incluyen a los virus oncógenos SV40 y otros más que se conoce que infectan a humanos (BK, JC, KI, WU, MCV, HPyV6, HPyV7, HPyV10 y TSV). Se ha observado que muchas especies de mamíferos y algunas aves tienen su propia especie de virus de polioma.

Replicación de los poliomavirus

El genoma de los poliomavirus contiene una región "temprana" y otra "tardía" (figura 43-7). La inicial se expresa poco después de la infección de las células; contiene genes que codifican las proteínas tempranas, es decir, el antígeno de tumor grande (T) SV40, que es necesario para la replicación del DNA viral en las células permisivas, y el antígeno de tumores pequeños (t). El genoma del virus del polioma murino codifica tres proteínas tempranas (antígenos T pequeño, intermedio y grande). Uno o dos de los antígenos T son los únicos productos del gen viral que son necesarios para la transformación de las células. Por lo general, las proteínas transformadoras se deben sintetizar continuamente para que las células permanezcan transformadas. La región tardía consta de genes que codifican la síntesis de las proteínas de revestimiento; no participan en la transformación ni se expresan en las células transformadas.

El antígeno T SV40 interactúa con los productos del gen supresor de tumores, que son miembros de la familia p53 y pRb (cuadro 43-4). Las interacciones del antígeno T con las

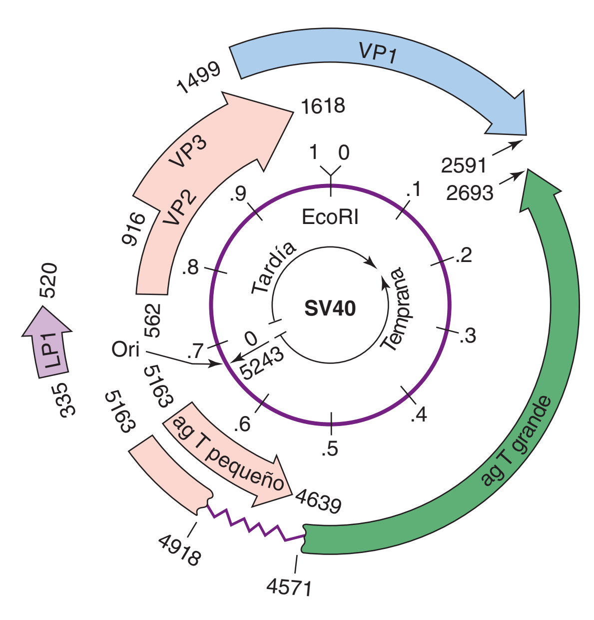


FIGURA 43-7 Mapa genómico del poliomavirus SV40. El círculo grueso representa el genoma circular del DNA de SV40. En la unidad del mapa 0/1 se muestra el sitio único de restricción *Eco*RI. Los números de los nucleótidos empiezan y terminan en el origen (Ori) de la replicación del DNA viral (0/5243). Las cajas con extremo en flecha indican los marcos abiertos de lectura que codifican a las proteínas virales. El sentido de las flechas indica la dirección de la transcripción; el inicio y final de cada marco abierto de lectura se indica con los números de los nucleótidos. Las diversas sombras señalan los distintos marcos de lectura utilizados para los distintos polipéptidos virales. Nótese que el antígeno T (T-ag) está codificado por dos segmentos no contiguos en el genoma. El genoma se divide en una región "temprana" y otra "tardía" que se expresan antes y después de iniciada la replicación del DNA viral, respectivamente. En las células transformadas sólo se expresa la región temprana. (Reproducido con autorización de Butel JS, Jarvis DL: The plasma-membrane-associated form of SV40 large tumor antigen: Biochemical and biological properties. *Biochim Biophys Acta* 1986;865:171.)

proteínas celulares son importantes para el ciclo de replicación del virus. La formación de complejos desactiva desde el punto de vista funcional las propiedades inhibidoras de la proliferación de pRb y p53, lo que permite a la célula ingresar en la fase S para que el DNA del virus se multiplique. De la misma manera, es indispensable la desactivación funcional de proteínas celulares por la unión con el antígeno T para el proceso de transformación mediada por el virus. Conforme p53 percibe el daño del DNA y bloquea el avance del ciclo celular o bien estimula la apoptosis, la interrupción de su función provocaría acumulación de células que expresan antígeno T con mutaciones genómicas que fomentan la oncogénesis.

Patogenia y anatomía patológica

Los poliomavirus humanos (BK y JC) tienen distribución mundial en las poblaciones de seres humanos, puesto en evidencia por la presencia de anticuerpos específicos en 70 a 80% de los sueros de adultos. Por lo general la infección se adquiere durante la infancia. Ambos virus persisten en los riñones y tejido linfoide de las personas sanas después de la infección primaria y se reactivan cuando se altera la respuesta inmunitaria del hospedador, por ejemplo, por un trasplante renal, durante el embarazo o con la edad avanzada. En los individuos inmunocompetentes, la reactivación viral y el desprendimiento de virus en la orina son asintomáticas. Los virus se aíslan con más frecuencia en pacientes inmunodeprimidos, que pueden enfermar. El virus BK causa cistitis hemorrágica en los receptores de trasplantes de médula ósea. Constituye la causa de la nefropatía por poliomavirus en los receptores de un trasplante renal, enfermedad grave que aparece hasta en 5% de los receptores y que provoca el fracaso del trasplante hasta en 50% de los pacientes. El virus JC es la causa de la leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML; *progressive multifocal leukoencephalopaty*), enfermedad mortal que ocurre también en algunos pacientes inmunodeprimidos, especialmente aquellos con deficiencia de la inmunidad celular por el tratamiento inmunosupresor o por una infección por el virus de inmunodeficiencia humana. Cerca de 5% de pacientes con sida padecen leucoencefalopatía multifocal progresiva. Los virus BK y JC son antigénicamente diferentes, pero ambos codifican un antígeno T vinculado con el antígeno T SV40. Estos virus humanos pueden transformar células de roedores e inducen tumores en hámsteres recién nacidos. El virus JC se ha vinculado con tumores cerebrales de ser humano, pero aún no se establece su participación causal.

Los virus KI y WU se descubrieron en el año 2007 en muestras de aspiración nasofaríngea obtenidas de niños con infecciones de las vías respiratorias. El poliomavirus de células de Merkel se identificó en el año 2008 en carcinomas de células de Merkel, tumores raros de la piel de origen neuroendocrino. Los estudios de seroprevalencia indican que las infecciones por virus KI, WU y de células de Merkel están bastante extendidas y probablemente se presentan en la niñez. Al parecer otros virus, HPyV6, HPyV7 y HPyV10, son constituyentes comunes de la piel de humanos. El poliomavirus vinculado con la *Tricodisplasia espinulosa* (TSV) se descubrió en lesiones de la piel proliferativas, el HPyV9 se encontró en la sangre de pacientes inmuodeprimidos, y el HPyV12 se localizó en tejido hepático. Otros poliomavirus se han encontrado en heces de humanos y entre éstos se incluyen a los MWPyV, MXPyV y al poliomavirus STL. Ante los descubrimientos recientes, resulta insuficiente la información sobre vínculos con enfermedades.

El virus de la células de Merkel al parecer es importante como factor causal en una gran fracción de carcinomas de las células en cuestión; en muchos de los tumores estudiados y definidos, el DNA del virus de la célula mencionada está integrado clonalmente en células tumorales, se necesita expresión oncogénica para la proliferación celular, y los genomas virales integrados muestran mutaciones en el gen de antígeno T que evita la réplica del DNA viral.

El SV40 se replica en ciertos tipos de células de mono y seres humanos; es altamente tumorígeno en hámsteres y en ratones transgénicos inoculados en forma experimental y tienen el potencial de transformar diversos tipos de células en cultivos. Rara vez se observa inducción de un tumor en el hospedador natural el mono Rhesus. El SV40 genera una enfermedad similar a la leucoencefalopatía multifocal progresiva en el mono rhesus.

El SV40 contaminó varios de los primeros lotes de vacuna contra la polio a base de virus vivos y muertos que se habían

cultivado en células de mono. Millones de personas en el mundo recibieron estas vacunas contaminadas entre 1955 y 1963. En la actualidad se detecta SV40 en muchas personas, incluso individuos demasiado jóvenes como para haber recibido la vacuna. La evidencia sugiere que éste (y otros poliomavirus) se pueden transmitir por vía fecal-oral en el ser humano. Aparentemente la frecuencia de las infecciones por SV40 en el hombre es reducida.

Se ha detectado DNA de SV40 en algunos tipos de tumores humanos, como tumores cerebrales, mesoteliomas, tumores óseos y linfomas. Se está investigando la participación del SV40 en la generación de cánceres en el ser humano.

La variedad de hospedadores de los poliomavirus por lo general es muy limitada. Casi siempre infectan una sola especie y sólo determinados tipos de células dentro de esa especie. Las excepciones son los poliomavirus de primate SV40 y BK; SV40 también infecta al humano y células humanas y el virus BK infecta algunos monos y células de mono. El virus puede transformar los tipos de células que no permiten la replicación de los poliomavirus.

PAPILOMAVIRUS

En el cuadro 43-6 se enumeran las principales propiedades de los papilomavirus.

Clasificación

La familia Papilomaviridae es una familia muy grande de virus que en la actualidad se divide en 16 géneros, de los cuales cinco contienen miembros que infectan al ser humano (*Alfa-papilomavirus, Beta-papilomavirus, Gama-papilomavirus, Mupa-papilomavirus y Nupa-papilomavirus*). Los papilomavirus antiguamente formaban parte de la familia Papovaviridae. Si bien los papilomavirus y poliomavirus comparten numerosas similitudes morfológicas, de composición de ácidos nucleicos y de potencial de transformación, las diferencias en la organización de su genoma y en su biología provocaron su separación en familias distintas. El diámetro de los papilomavirus es un poco mayor (55 nm) que el de los poliomavirus (45 nm) y contienen un genoma más grande (8 frente a 5 kbp). La organización del genoma de los papilomavirus es más compleja (figura 43-8). La diversidad entre los papilomavirus es extendida. No se pueden llevar a cabo pruebas de neutralización puesto que no existe análisis *in vitro* de su potencial infeccioso, de manera que las cepas aisladas de papilomavirus se clasifican por medio de criterios moleculares. Los “tipos de virus” tienen una diferencia cuando menos de 10% en la secuencia de sus genes L1. Se han obtenido casi 200 tipos diferentes de papilomavirus humanos.

CUADRO 43-6 Propiedades importantes de los Papilomavirus[a]

Virión: icosaédrico, 55 nm de diámetro
Composición: DNA (10%), proteínas (90%)
Genoma: DNA bicatenario, circular, 8 kbp,
Proteínas: dos proteínas estructurales; las histonas celulares condensan el DNA en el virión
Cubierta: ninguna
Replicación: núcleo
Características principales: Estimula la síntesis de DNA celular; Gama de hospedadores y tropismo hístico limitado; Causa importante de cáncer en el humano, especialmente cervicouterino; Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares

[a] Antiguamente clasificado dentro de la familia Papovaviridae.

Replicación de los papilomavirus

Los papilomavirus son altamente trópicos para las células epiteliales de la piel y mucosas. Es posible encontrar ácido nucleico viral en las células troncales basales, pero la expresión genética tardía (proteínas de la cápside) se limita a la capa superior de queratinocitos diferenciados (figura 43-9). Las fases del ciclo de replicación viral dependen de ciertos factores presentes en

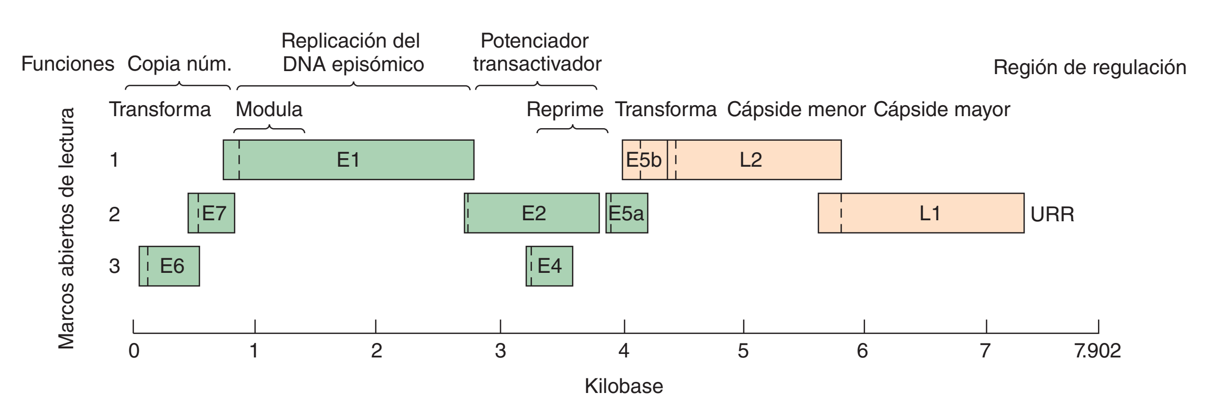


FIGURA 43-8 Mapa del genoma del papilomavirus humano (HPV-6, 7902 pares de bases). El genoma del papilomavirus es circular pero se muestra en forma lineal en la región reguladora río arriba (URR; *upstream regulatory region*). Esta región reguladora río arriba contiene el origen de la replicación y las secuencias promotora y potenciadora. Se muestran los marcos abiertos de lectura tanto tempranos (E1-E7) como tardíos (L1, L2) y sus funciones. Todos los marcos abiertos de lectura se encuentran en la misma cadena de DNA viral. Las funciones biológicas se han extrapolado a partir de estudios con papilomavirus de bovino. La organización del genoma del papilomavirus es mucho más compleja que la del poliomavirus típico (compare con la figura 43-7). (Reimpresa con autorización de Broker TR: Structure and genetic expression of papillomaviruses. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:329. Copyright Elsevier.)

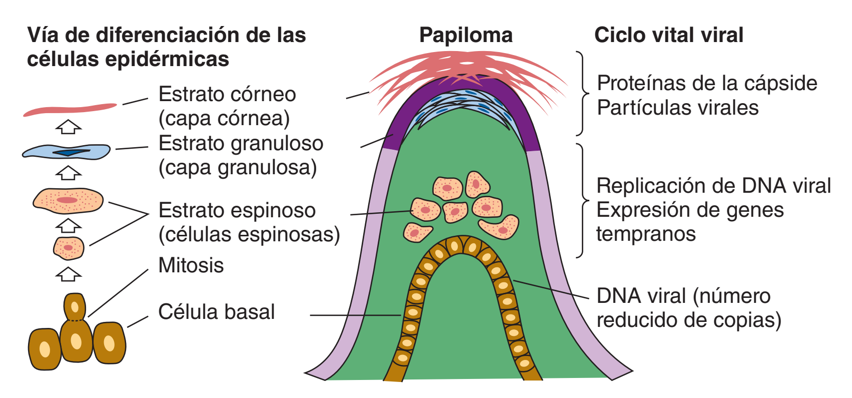


FIGURA 43-9 Representación esquemática de una verruga cutánea (papiloma). El ciclo vital del papilomavirus está ligado a la diferenciación de las células epiteliales. En el lado izquierdo se muestra la vía terminal de diferenciación de las células epidérmicas. Los acontecimientos en el ciclo vital del virus se muestran en el lado derecho. Los últimos acontecimientos de la replicación viral (síntesis de proteínas de la cápside y morfogénesis del virión) sólo ocurren en las células con diferenciación terminal. (Reimpresa con autorización de Butel JS: Papovaviruses. Con autorización de Baron S [editor]. *Medical Microbiology*, 3a. ed. Churchill Livingstone, 1991.)

los estados diferenciados secuenciales de las células epiteliales. Esta subordinación tan poderosa de la replicación viral en el estado diferenciado de la célula hospedadora es el origen de las dificultades para propagar al papilomavirus *in vitro*.

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones virales se transmiten por contacto cercano. Las partículas virales se liberan de la superficie de las lesiones papilomatosas. Probablemente las microlesiones permiten la infección de las células de la capa basal proliferante en otros sitios o en distintos hospedadores.

Los papilomavirus infectan la piel y mucosas; provocan en ocasiones distintos tipos de verrugas como las cutáneas, plantares, planas, anogenitales, papilomas laríngeos y diversos cánceres, incluidos el cervicouterino, vulvar, del pene y anal y un subgrupo de cánceres de cabeza y cuello (cuadro 43-7).

Los múltiples tipos de cepas aisladas de VPH se vinculan con determinadas lesiones clínicas, aunque las pautas de distribución no son absolutas. Las infecciones genitales por HPV se transmiten por vía sexual y constituyen una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes en Estados Unidos. El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres en todo el mundo (alrededor de 500 000 casos nuevos anuales) y constituye la causa principal de muerte por cáncer en los países subdesarrollados.

Con base en la frecuencia relativa de DNA viral en determinados cánceres, los tipos 16 y 18 de HPV se consideran de riesgo cancerígeno elevado; otros 16 tipos menos comunes se asocian con menor frecuencia con neoplasias pero también se consideran de alto riesgo. Muchos tipos se consideran benignos.

Las células del cáncer cervicouterino casi siempre contienen copias integradas de DNA viral, si bien el DNA del HPV no suele integrarse (episómico) en las células no cancerosas o lesiones premalignas. Aparentemente los carcinomas cutáneos albergan genomas de HPV en estado episómico. Las proteínas tempranas virales E6 y E7 se sintetizan en el tejido canceroso. Estas son proteínas transformadoras del HPV que pueden formar complejos con Rb, p53 y otras proteínas celulares (cuadro 43-4).

El comportamiento de las lesiones por HPV depende de una serie de factores inmunológicos. Es muy importante la

CUADRO 43-7 Ejemplos de relación entre Papilomavirus humano y lesiones clínicas

Tipo de Papilomavirus humano[a]	Lesión clínica	Potencial oncógeno sospechado
1	Verrugas plantares	Benigno
2, 4, 27, 57	Verrugas cutáneas comunes	Benigno
3, 10, 28, 49, 60, 76, 78	Lesiones cutáneas	Bajo
5, 8, 9, 12, 17, 20, 36, 47	Epidermodisplasia verruciforme	Principalmente benigno, pero algunos se malignizan
6, 11, 40, 42 a 44, 54, 61, 70, 72, 81	Condilomas anogenitales; papilomas laríngeos; displasias y neoplasias intraepiteliales (mucosas)	Bajo
7	Verrugas en las manos de los carniceros	Bajo
16, 18,	Pueden avanzar a displasias de alto grado y carcinomas de la mucosa genital; carcinoma laríngeo y esofágico	Gran correlación con carcinomas genitales y bucales, especialmente cervicouterino
30, 31, 33, 35, 39, 45, 51 a 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82	Pueden avanzar a displasias de alto grado y carcinomas de la mucosa genital; carcinoma laríngeo y esofágico. Correlación moderada con carcinomas genital y bucal, en especial cervicouterino, considerados tipos de HPV de alto riesgo	Correlación moderada con carcinoma genital y bucal, en especial cervicouterino, considerados tipos de HPV de alto riesgo

[a] No se mencionan todos los tipos de Papilomavirus.

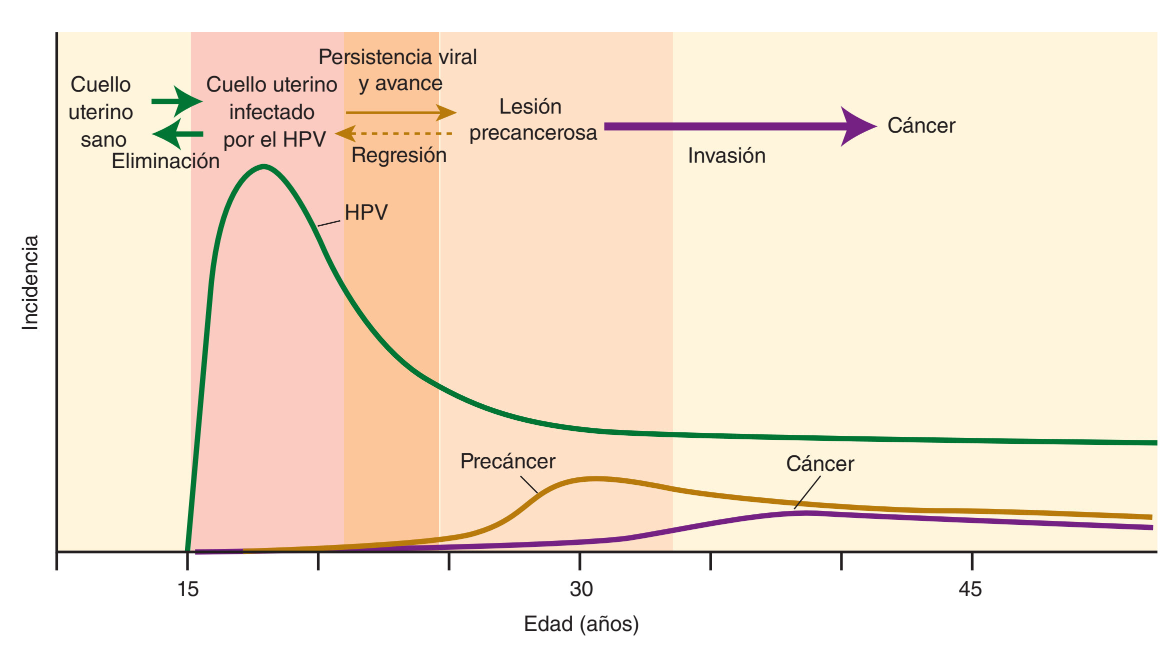


FIGURA 43-10 Relación entre la infección cervicouterina por HPV, precáncer y cáncer. La curva de HPV muestra la frecuencia tan elevada de esta infección poco después de que la mujer empieza su actividad sexual y el descenso ulterior debido a que muchas infecciones se resuelven espontáneamente. La curva de la frecuencia precancerosa ilustra un retraso entre la adquisición de la infección por el HPV y el comienzo de la lesión precancerosa y que sólo un subgrupo de mujeres infectadas desarrolla una lesión premaligna. La curva de incidencia de cáncer muestra un intervalo relativamente prolongado entre la lesión precancerosa y su progresión a un cáncer invasor. (Reproducida con autorización de Lowy DR, Schiller JT: Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J Clin Invest* 2006;116:1167. Permiso concedido por Copyright Clearance Center, Inc. Modificada de Schiffman M, Castle PE: The promise of global cervical-cancer prevention. *N Engl J Med* 2005;353:2101.)

inmunidad celular. Casi todas las infecciones por HPV desaparecen en un lapso de dos a tres años.

El cáncer cervicouterino evoluciona lentamente, algunas veces a lo largo de varios años o décadas. Se cree que numerosos factores participan en la evolución maligna; sin embargo, un componente necesario para este proceso es la infección persistente por un HPV de alto riesgo (figura 43-10).

Manifestaciones clínicas y epidemiología

Se calcula que en el mundo 660 millones de personas padecen infecciones genitales por HPV, lo que la convierte en la infección viral más frecuente del aparato reproductor. Se ha calculado que unos 20 millones de estadounidenses están infectados y que, en promedio, seis millones de infecciones nuevas surgen anualmente en Estados Unidos. Las infecciones por HPV alcanzan su punto máximo en los adolescentes y jóvenes adultos menores de 25 años de edad.

Se sabe que los HPV causan los cánceres anogenitales. Más de 99% de los cánceres cervicouterinos y más de 80% de los anales tienen relación estrecha con las infecciones genitales por papilomavirus humano. Los papilomavirus ilustran el concepto de que el potencial oncógeno de las cepas virales naturales es variable. Si bien muchos tipos distintos de HPV pueden causar infecciones genitales, los más frecuentes en el carcinoma cervical son HPV-16 o HPV-18, aunque algunos cánceres contienen DNA de otros tipos como es el caso del HPV-31. Los estudios epidemiológicos indican que HPV-16 y HPV-18 constituyen la causa de más de 70% de los cánceres cervicouterinos y el más frecuente es el tipo 16. Las células HeLa, línea celular utilizada en cultivos de tejidos que se obtuvo desde hace muchos años a partir de un carcinoma cervicouterino, contienen DNA de HPV-18.

El cáncer anal está muy relacionado con la infección por papilomavirus humano de alto riesgo. Los pacientes con mayor predisposición son los individuos inmunodeprimidos, así como los varones que tienen relaciones homosexuales. En el conducto anal de varones infectados por el VIH, en el último grupo se han identificado múltiples tipos de HPV. Los cánceres orofaríngeos, subgrupo de carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, también guardan relación con infecciones por HPV, en particular el tipo 16. Aproximadamente 25% de los cánceres de cavidad oral y 35% de los cánceres de la faringe tienen alguna conexión con HPV. La cavidad oral de personas VIH-positivas y VIH-negativas contiene un número abundante de diferentes tipos de HPV.

Ya se ha demostrado que el hombre es portador del HPV y además vector de las infecciones; sin embargo, la mayor parte de las infecciones de pene por HPV es subclínica y no produce ninguna enfermedad por el papilomavirus humano.

Por lo general las verrugas anogenitales (90%) son producidas por HPV de bajo riesgo tipos 6 y 11. Los papilomas laríngeos en los niños, también llamados papilomatosis respiratoria recurrente, son producidos por HPV-6 y HPV-11, los mismos virus que causan los condilomas genitales benignos. Esta infección se adquiere al atravesar el canal del parto en una mujer con verrugas genitales. Los papilomas laríngeos son raros, pero algunas veces obstruyen la laringe y deben ser extirpados en repetidas ocasiones por medios quirúrgicos. Cada año se diagnostican aproximadamente 3 000 casos de esta enfermedad; hasta 3% de estos niños muere.

En la piel normal de los individuos sanos con frecuencia existe DNA del papilomavirus humano. Al parecer estas infecciones asintomáticas se adquieren desde la infancia. En la piel sana se detecta una gran diversidad del virus referido. Se cree se transmite por contacto directo de varias personas con un niño infectado, lo cual es congruente con la incidencia elevada (60%) de los tipos detectados en lactantes y sus madres.

En los pacientes con inmunodepresión la frecuencia de verrugas y cáncer cervicouterino es mayor. Todos los cánceres ligados al HPV son más frecuentes en personas con el VIH/sida.

Prevención y control

El uso generalizado del estudio del Papanicolau (Pap) para la detección del cáncer cervicouterino ha resultado en una disminución importante en el número de muertes por cáncer cervicouterino. Esta prueba citológica pretende detectar cambios precancerosos en la morfología celular, lo que permite a su vez la extirpación de la lesión antes de que el cáncer se desarrolle. Las pruebas para detectar la presencia del HPV de los tipos 16 y 18, o de todos los tipos de alto riesgo, incrementan la sensibilidad y la especificidad en la detección de las lesiones precancerosas. Las pruebas de laboratorio se basan en métodos de hibridación del DNA o por PCR. Los algoritmos de prueba incluyen ensayos en respuesta a frotis anormales del Pap, coensayos, o escrutinios primarios para HPV. Los estudios han indicado que en la mayoría de los escenarios se deben preferir los algoritmos de escrutinio para HPV primario. No es necesario aplicar la prueba a mujeres menores de 20 años porque las infecciones iniciales por HPV por lo general se resuelven.

Se espera que las vacunas contra el HPV sean una manera rentable de reducir las infecciones anogenitales por el virus, la frecuencia del cáncer cervicouterino y la carga sanitaria que representa el papilomavirus humano. En Estados Unidos se aprobó el uso de una vacuna tetravalente contra HPV en el año 2006 y de una vacuna bivalente en el 2007. Ambas son vacunas recombinantes no infecciosas que contienen partículas similares a virus compuestas por proteínas L1 del papilomavirus humano. La vacuna tetravalente contiene partículas derivadas del HPV tipos 6, 11, 16 y 18, mientras que la bivalente contiene partículas de los tipos 16 y 18. Ambas son efectivas para prevenir las infecciones persistentes por los tipos de HPV a los que están dirigidos y la aparición de lesiones precancerosas genitales por el virus referido, pero son ineficaces contra la enfermedad por HPV establecida. Las adolescentes y las adultas jóvenes constituyeron el segmento inicial de la población al que se brindaron vacunaciones y se recomendó tal práctica para adolescentes y varones adultos jóvenes, de modo que recibieran en el 2011 la vacuna cuadrivalente. No se conoce la duración de la inmunidad inducida por la vacuna, pero al parecer se extiende cuando menos durante diez años.

ADENOVIRUS

Los adenovirus (capítulo 32) comprenden un grupo grande de microorganismos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Son virus de tamaño mediano y sin cubierta que contienen un genoma lineal de DNA bicatenario (26 a 45 kbp). Su replicación es específica de la especie, se lleva a cabo en las células del hospedador natural. Los adenovirus infectan con frecuencia al ser humano, generando una enfermedad aguda leve, principalmente del tracto respiratorio e intestinos.

Los adenovirus pueden transformar células de roedor e inducir la síntesis específica de antígenos tempranos específicos del virus tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células transformadas. La proteína temprana E1A forma complejos con las proteínas celulares Rb y muchas otras proteínas de la célula. Otras proteínas tempranas, E1B y E4ORF1, se unen con p53 y otras proteínas de señalización celular (cuadro 43-4). Los adenovirus son modelos importantes para estudiar los mecanismos moleculares por medio de los cuales los virus de DNA oncógenos se apoderan de los mecanismos que regulan la proliferación celular. Los diversos serotipos de adenovirus manifiestan distintos grados de oncogenicidad en los hámsteres recién nacidos. No se ha encontrado relación entre los adenovirus y las neoplasias del ser humano.

HERPESVIRUS

Estos virus grandes (diámetro de 125 a 200 nm) contienen un genoma lineal de DNA bicatenario (125 a 240 kbp) y poseen una cápside con simetría icosaédrica rodeada de una cubierta externa que contiene lípidos. Los herpesvirus (capítulo 33) generan infecciones agudas seguidas de latencia y recurrencias en cada hospedador, incluido el ser humano.

En la especie humana los herpesvirus se han relacionado con diversos tipos de tumores. El herpesvirus EBV produce la infección aguda llamada mononucleosis infecciosa cuando infecta a los linfocitos B de las personas susceptibles. Los linfocitos normales del ser humano tienen una vida media limitada *in vitro*, pero el EBV inmortaliza a los linfocitos B formando líneas celulares linfoblásticas que proliferan indefinidamente en cultivos.

El EBV tiene relación causal con el linfoma de Burkitt, tumor más frecuente en los niños de África Central; el carcinoma nasofaríngeo, que es más frecuente entre los chinos cantoneses y los esquimales de Alaska que en otras poblaciones; los linfomas después de un trasplante, y la enfermedad de Hodgking. Estos tumores por lo general contienen DNA del virus EBV (tanto en forma integrada como episómica) y antígenos virales.

El EBV codifica una proteína oncogénica viral (LMP1) que simula un receptor activado del factor de crecimiento. La LMP1 puede transformar fibroblastos de roedor y es indispensable para la transformación de los linfocitos B (cuadro 43-4). Se necesitan diversos antígenos nucleares codificados por EBV (EBNA) para la inmortalización de las células B; EBNA1 es la única proteína viral que se expresa de manera consistente en las células del linfoma de Burkitt. El EBV logra evitar la eliminación inmunitaria de manera exitosa, debido tal vez en parte, a la función de EBNA1 en la inhibición del procesamiento del antígeno que permite a las células infectadas escapar de la muerte por efectos de los linfocitos T citotóxicos.

Probablemente el paludismo es un cofactor del linfoma de Burkitt africano. La mayor parte de estos tumores exhibe además translocaciones cromosómicas características entre el gen *c-myc* y los loci de inmunoglobulinas, provocando la

apter 43_Carroll_4R.indd 634 15/04/16

activación constitutiva de la expresión de *myc*. El consumo de pescado salado o seco quizá constituye un cofactor alimenticio en el carcinoma nasofaríngeo vinculado con el virus de Epstein-Barr. Los trastornos linfoproliferativos postrasplante vinculados a EBV son más frecuentes en pacientes de trasplante inmunosuprimidos y se pueden detectar en etapa temprana a través de la búsqueda del EBV en sangre.

El herpesvirus ligado al sarcoma de Kaposi, también conocido como *herpesvirus humano 8* (KSHV/HHV8), no es tan ubicuo como otros herpesvirus humanos. Se cree que constituye la causa del sarcoma de Kaposi, linfoma con derrame primario y enfermedad multicéntrica de Castleman, trastorno linfoproliferativo. El KSHV posee varios genes relacionados con genes de regulación celular que estimulan la proliferación de las células y modifican los mecanismos de defensa del hospedador.

Algunos herpesvirus producen tumores en animales inferiores. La enfermedad de Marek es una enfermedad linfoproliferativa del pollo altamente contagiosa que se puede prevenir vacunándolos con una cepa atenuada del virus de esta enfermedad. En este caso, la prevención del cáncer por medio de la vacuna confirma que el virus es la causa y sugiere la posibilidad de un método similar para prevenir los tumores con un virus causal similar en el humano. Otros ejemplos de tumores inducidos por herpesvirus en animales son los linfomas de algunos tipos de monos y adenocarcinomas de ranas. Los virus de simio generan infecciones ocultas en sus hospedadores naturales pero inducen linfomas malignos de células T cuando se transmiten a determinadas especies de monos.

POXVIRUS

Los poxvirus (capítulo 34) son virus grandes con forma de ladrillo y un genoma lineal de DNA bicatenario (130 a 375 kbp). El virus de Yaba produce tumores benignos (histiocitomas) en su hospedador natural, que es el mono. El virus del fibroma de Shope produce fibromas en algunos conejos y modifica las células en cultivo. El virus del molusco contagioso produce tumores benignos pequeños en el ser humano. Se sabe muy poco sobre la naturaleza de estas enfermedades proliferativas.

MÉTODO PARA COMPROBAR QUE UN VIRUS CAUSA CÁNCER EN SERES HUMANOS

Es claro que los virus participan en la génesis de diversos tipos de tumores del ser humano. Sin embargo, en general es difícil comprobar que existe una relación causal entre el virus y determinado tipo de cáncer.

Cuando un virus constituye el único elemento causal de un cáncer específico, la distribución geográfica de la infección viral debe coincidir con la del tumor; la presencia de marcadores virales debe ser mayor en los casos que en los testigos, y la infección viral debe preceder al tumor. Estos criterios en ocasiones son difíciles de establecer cuando otros factores ambientales o genéticos producen algunos casos del mismo tipo de cáncer. Sólo si la expresión continua de la función viral es necesaria para mantener la transformación, los genes virales persistirán de manera obligada en cada célula tumoral. Si el virus aporta el primer paso en la carcinogénesis de pasos múltiples, el genoma viral quizá se pierde conforme el tumor avanza hacia fases más alteradas. Por el contrario, en ocasiones el virus se relaciona frecuentemente con un tumor, pero sólo es un pasajero a causa de cierta afinidad por el tipo celular.

Los virus oncógenos por lo general no se replican en las células transformadas, por lo que es necesario utilizar métodos muy sensibles para buscar ácidos nucleicos o proteínas virales en las células con el fin de identificar la presencia del virus. A menudo no se expresan las proteínas estructurales virales, pero las proteínas no estructurales codificadas por el virus se expresan como marcadores de la presencia viral.

La inducción de un tumor en animales de laboratorio y la transformación de células humanas en cultivo constituyen buenas líneas circunstanciales de evidencia de que un virus es oncógeno y estos sistemas ofrecen modelos para el análisis molecular de la transformación. Sin embargo, no constituyen una prueba que el virus cause determinado cáncer en personas.

La prueba más definitiva de una relación causal es disminuir la incidencia de tumores al prevenir la infección viral. Los métodos intervencionistas deben ser efectivos para reducir el cáncer aunque el virus sea sólo uno de varios cofactores.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- Los virus son agentes causales de algunos tipos de cáncer de humanos.
- Los virus cancerígenos se clasifican en diferentes familias que incluyen agentes que contienen RNA o DNA y actúan por mecanismos de carcinogénesis diferentes.
- Los virus cancerígenos de humanos incluyen los de la hepatitis B y de la hepatitis C, virus del papiloma humano, virus de Epstein-Barr, herpesvirus humanos 8 y virus linfotrópicos T humanos, así como los de las células de Merkel. El virus de inmunodeficiencia humana se considera también como agente cancerígeno por la supresión inmunitaria que conlleva la infección por tal partícula.
- Se cuenta con vacunas eficaces contra el virus de la hepatitis B y los papilomavirus humanos de alto riesgo.
- Los modelos animales y las células cultivadas se utilizan para explorar mecanismos de la carcinogénesis viral.
- Los estudios con virus tumorales señalaron la participación de los oncogenes celulares y los genes oncosupresores en el cáncer, y permitieron la identificación de las bases moleculares de la carcinogénesis.
- Los virus tumorales originan infecciones persistentes en hospedadores, y se advierten periodos largos de latencia entre la infección inicial y la aparición del tumor.
- Las infecciones por virus cancerígenos son mucho más frecuentes que la formación de tumores por mecanismos virales.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los virus pueden causar cáncer en animales y seres humanos. Uno de los principios de la carcinogénesis viral es que:
   (A) Los retrovirus causan la mayor parte de los cánceres en el ser humano

(B) No todas las infecciones por virus oncógenos humanos provocan la formación de tumores
(C) Entre la infección viral y la aparición del tumor transcurre un periodo de latencia corto
(D) Los modelos de animales rara vez pronostican los mecanismos celulares en el cáncer humano
(E) La repercusión de los factores del hospedador en el cáncer humano inducido por virus es insignificante

2. Los oncogenes celulares representan genes activados que participan en el cáncer. Otra clase de genes cancerígenos participa en la producción de cáncer únicamente cuando se desactivan ambos alelos del gen. La segunda clase de genes se denomina:
(A) Protoncogenes
(B) Genes de antígeno T
(C) Genes supresores tumorales
(D) Genes transducidos
(E) Genes silenciosos

3. Una mujer de 38 años de edad es diagnosticada con cáncer cervicouterino. Este cáncer es frecuente en todo el mundo y su causa está muy relacionada con un virus que se transmite por vía sexual. El microorganismo causal del cáncer cervicouterino en el ser humano es:
(A) Virus de la hepatitis C
(B) Virus de la hepatitis B
(C) Papilomavirus humano, tipos de alto riesgo
(D) Poliomavirus
(E) Herpesvirus

4. Los retrovirus codifican una enzima llamada transcriptasa inversa. La función de esta enzima es:
(A) Actividad de DNasa
(B) Actividad de DNA polimerasa dependiente de RNA
(C) Actividad de RNA polimerasa dependiente de DNA
(D) Actividad de RNA polimerasa dependiente de RNA
(E) Actividad de topoisomerasa

5. Dos meses después de un trasplante renal, un varón de 47 años de edad manifiesta nefropatía. Hasta 5% de los receptores de un aloinjerto renal padece de nefropatía. La causa viral de algunos casos de nefropatía es:
(A) Poliomavirus BK
(B) Papilomavirus humano, todos los tipos
(C) Papilomavirus humano, tipos de bajo riesgo
(D) Virus de la hepatitis C
(E) Citomegalovirus humano

6. El papilomavirus humano causa cáncer en el hombre y se relaciona con más frecuencia con:
(A) Pólipos rectales
(B) Cáncer mamario
(C) Cáncer de próstata
(D) Cánceres anogenitales
(E) Mesotelioma

7. Un virus que causa cáncer en el hombre también se relaciona con un trastorno del sistema nervioso llamado paraparesia espástica tropical. Este virus es:
(A) Poliomavirus JC
(B) Poliomavirus SV40
(C) Virus de herpes simple
(D) Virus linfotrópico humano de células T
(E) Virus de inmunodeficiencia humana

8. El poliomavirus codifica oncoproteínas llamadas antígenos T. Estos productos genéticos virales:
(A) No son necesarios para la replicación viral
(B) Interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares
(C) Funcionan para integrar al provirus viral en el cromosoma celular
(D) Mutan rápidamente para permitir que el virus escape a la eliminación inmunitaria del hospedador
(E) No pueden transformar células en cultivo

9. Los virus oncógenos se clasifican en diversas familias virales. ¿Cúal de las siguientes familias de virus contienen un virus oncógeno humano con un genoma de RNA:
(A) Adenoviridae
(B) Herpesviridae
(C) Hepadnaviridae
(D) Papilomaviridae
(E) Flaviviridae

10. Los papilomas laríngeos en los niños suelen ser causados por los mismos virus que producen los condilomas genitales benignos. Estos virus son:
(A) Papilomavirus tipos 6 y 11
(B) Poliomavirus JC
(C) Virus de Epstein-Barr
(D) Virus del molusco contagioso
(E) Papilomavirus tipos 16 y 18

11. Las vacunas contra los tipos más comunes de HPV que causan infecciones genitales fueron aprobadas en los años 2006 y 2007. Se deben utilizar en las poblaciones siguientes:
(A) Todos los adultos, tanto varones como mujeres
(B) Todas las mujeres adultas
(C) Mujeres con lesiones cervicales precancerosas
(D) Adolescentes y adultos jóvenes, tanto niños como niñas
(E) Adolescentes y mujeres adultas jóvenes

12. ¿Qué característica describe mejor las vacunas existentes contra HPV?
(A) Virus vivos atenuados
(B) Virus vivos recombinantes
(C) Subunidad no infecciosa
(D) Toxoides

13. Muchos de los retrovirus oncógenos poseen oncogenes muy similares a los genes celulares normales, llamados protooncogenes. De las afirmaciones siguientes respecto a los protooncogenes: ¿cuál es *incorrecta*?
(A) Se han observado algunos protooncogenes en la forma mutante en cánceres de humanos que no tuvieron signos de un origen viral
(B) Algunos oncogenes virales y sus protooncogenes originales codifican proteínas cinasas específicas de tirosina
(C) Algunos protooncogenes codifican factores de crecimiento celular y receptores para los mismos
(D) Los protooncogenes guardan relación muy cercana con los transposones que aparecen en las bacterias

Respuestas

1. B	5. A	9. E	12. C
2. C	6. D	10. A	13. D
3. C	7. D	11. D	
4. B	8. B		

BIBLIOGRAFÍA

Brechot C (guest editor): Hepatocellular carcinoma. *Oncogene Rev* 2006;25:3753. [Entire issue.]

Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21:405.

Chang MH: Cancer prevention by vaccination against hepatitis B. *Recent Results Cancer Res* 2009;181:85.

Dalianis T, Ramqvist T, Andreasson K, Kean JM, Garcea RL: KI, WU and Merkel cell polyomaviruses: A new era for human polyomavirus research. *Semin Cancer Biol* 2009;19:270.

Gjoerup O, Chang Y: Update on human polyomaviruses and cancer. *Adv Cancer Res* 2010;106:1.

Goff SP: Retroviridae: The retroviruses and their replication. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, *et al.:* Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:577.

Howley PM, Lowy DR: Papillomaviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Human papillomavirus vaccines. WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:118.

Imperiale MJ, Major EO: Polyomaviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Javier RT, Butel JS: The history of tumor virology. *Cancer Res* 2008;68:7693.

Jeang KT, Yoshida M (guest editors): HTLV-1 and adult T-cell leukemia: 25 years of research on the first human retrovirus. *Oncogene Rev* 2005;24:5923. [Entire issue.]

Jones-Engel L, May CC, Engel GA, *et al.:* Diverse contexts of zoonotic transmission of simian foamy viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1200.

Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL: Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathogens* 2009;5:e1000363.

Kutok JL, Wang F: Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 2006;1:375.

Moody CA, Laimins LA: Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010;10:550.

Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S: Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007;370:890.

Shroyer KR, Dunn ST (editors): Update on molecular diagnostics for the detection of human papillomavirus. *J Clin Virol* 2009;45(Suppl 1):S1. [Entire issue.]

Tsai WL, Chung RT: Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene* 2010;29:2309.

CAPÍTULO

44

Sida y lentivirus

Los virus de inmunodeficiencia humana (VIH), derivados de lentivirus de primates, constituyen los agentes etiológicos del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida). La enfermedad fue descrita originalmente en 1981 y se aisló al VIH-1 a finales de 1983. Desde esa fecha el sida ha adquirido el carácter de epidemia mundial, la cual se ha extendido en alcance y magnitud conforme las infecciones por VIH han afectado poblaciones y regiones geográficas diferentes. En la actualidad a nivel mundial millones de personas se encuentran afectadas por el VIH; una vez adquirida la infección, las personas permanecen infectadas de por vida. De no recibir tratamiento la gran mayoría de los individuos afectados por el VIH, tras una década de infección por el mismo, desarrollarán infecciones oportunistas como consecuencia de las deficiencias inducidas por el virus en el sistema inmunológico. A principios del XXI el sida es uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo. Uno de los grandes progresos en este campo ha sido el desarrollo del tratamiento antirretroviral altamente activo (HARRT, *Highly Active Antiretroviral Therapy*) para suprimir por largo plazo la replicación del virus y evitar la progresión hacia el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida).

PROPIEDADES DE LOS LENTIVIRUS

En el cuadro 44-1 se muestra un resumen de las propiedades importantes del genero lentivirus, que son miembros de la familia **Retroviridae**.

Estructuras y composición

El VIH es un retrovirus, miembro del género *Lentivirus* y posee muchas de las características fisicoquímicas típicas de la familia (capítulo 43). La característica morfológica peculiar del VIH es poseer un nucleoide cilíndrico en el virión maduro (figura 44-1). El nucleoide en forma de barra, que constituye un signo diagnóstico visible en micrografía electrónica en partículas extracelulares seccionadas en el ángulo apropiado.

El genoma del RNA de los lentivirus es más complejo que el de los lentivirus transformantes (figura 44-2). Los lentivirus contienen los cuatro genes necesarios para la replicación de un retrovirus que son *gag, pro, pol* y *env* los cuales cumplen con las características generales de replicación de los retrovirus (capítulo 43). Se sabe que hasta seis genes adicionales regulan la expresión viral y son importantes en la patogenia de la enfermedad *in vivo*. Dichos genes auxiliares poseen poca homología de secuencias entre los lentivirus, pero conservan sus funciones (los virus de felinos y ungulados codifican menos genes accesorios). La proteína Tat, que es una de las que intervienen en la réplica de fase temprana, actúa en la "transactivación" en la cual el producto de un gen viral participa en la activación transcripcional de otros genes del virus. La transactivación por parte del VIH es muy eficiente y puede contribuir a la naturaleza virulenta de las infecciones por el VIH. La proteína Rev se necesita para la expresión de las proteínas estructurales virales; esta proteína facilita la exportación desde el núcleo de transcritos virales no empalmados. Las proteínas estructurales son traducidas a partir de mRNA no empalmados durante la fase tardía de la replicación viral. La proteína Nef incrementa la infectividad del virus, facilita la activación de los linfocitos T inactivos, disminuye la expresión de CD4 y de los antígenos Tipo I del complejo de histocompatibilidad (MHC; *mayor histocompatibility complex*). El gen *nef* es necesario para que el virus de inmunodeficiencia de simios (VIS) sea patógeno en monos. La proteína Vpr incrementa el transporte del complejo de preintegración viral al interior del núcleo y también "detiene" las células en la fase G2 de su ciclo. La proteína Vpu promueve la degradación de linfocitos CD4.

Las células contienen en su interior proteínas inhibidoras contra virus, conocidas como factores de restricción. Un tipo es APOBEC3G, una citidina desaminasa que inhibe la replicación del VIH. La proteína Vif promueve la infectividad viral al suprimir los efectos del factor APOBEC3G. Otra proteína inhibidora es TRIM5α, que se liga a las partículas retrovirales de entrada y las recluta hasta llevarlas a los proteasomas mucho antes de que ocurra la síntesis de DNA viral.

Las diferentes variedades de VIH no son idénticas, pero al parecer incluyen toda una gran diversidad de virus similares (consúltese Clasificación). En un sujeto infectado se identifican poblaciones heterogéneas de genomas virales, denominadas cuasiespecies, heterogeneidad que refleja las altas tasas de replicación viral y altas tasas de error de la transcriptasa inversa viral. Las regiones de máxima divergencia entre diferentes partículas virales se localizan en el gen *env* que codifica las proteínas de la cubierta viral (figura 44-3). Uno de los productos finales del gen *env*, la proteína gp120 (producto SU), contiene los dominios de unión responsables de la fijación del virus a la molécula CD4 y sus correceptores, determinan el tropismo por linfocitos y macrófagos, y transportan los determinantes antigénicos principales que desencadenan la producción de anticuerpos neutralizantes. La glucoproteína gp120 de VIH posee cinco regiones variables (V) que muestran divergencia de una variante viral a la otra, siendo la región V3 importante en la neutralización. La glicoproteína gp41, otro producto del gen *env* (producto TM), contiene tanto un dominio transmembrana que fija a la glucoproteína en la cubierta viral y un dominio de fusión que facilita la penetración del virus en las células

apter 44_Carroll_4R.indd 639 15/04/16

CUADRO 44-1 Propiedades importantes de los lentivirus (retrovirus no oncógenos)

Virión: esférico, de 80 a 100 nm de diámetro y centro cilíndrico
Genoma: RNA monocatenario, lineal, en sentido positivo, de 9 a 10 kb, diploide; el genoma es más complejo que el de retrovirus oncógenicos y contiene incluso seis genes adicionales de replicación
Proteínas: la glucoproteína de la cubierta muestra variación antigénica; la enzima transcriptasa inversa se localiza al interior de los viriones; se necesita de la proteasa para la producción del virus infectante
Cubierta: presente
Replicación: la transcriptasa inversa elabora una copia de DNA a partir del RNA genómico; el DNA del provirus es una plantilla para el RNA viral. La variabilidad genética es frecuente
Maduración: las partículas son extruidas de la membrana plasmática
Características sobresalientes: Los miembros no son oncogénicos y pueden ser destructores de células Infectan células del sistema inmunitario Los provirus permanentemente quedan vinculados con las células La expresión viral se limita a algunas células *in vivo* Causa enfermedades crónicas de evolución lenta La replicación suele ser específica de cada especie El grupo incluye los agentes causales del sida

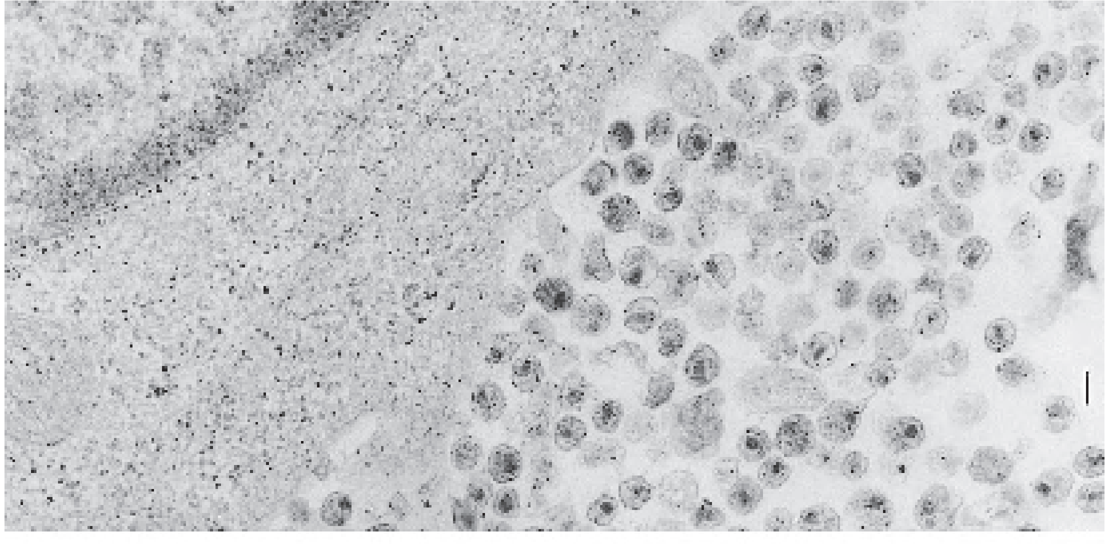
que busca invadir. La divergencia en la cubierta del VIH complica los intentos de crear una vacuna eficaz contra el sida.

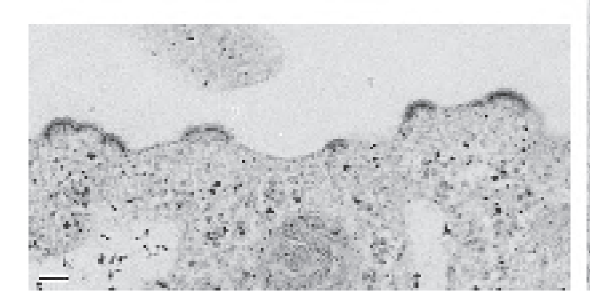
Los lentivirus son partículas totalmente exógenas; a diferencia de los retrovirus transformantes, el genoma lentiviral no contiene ningún gen celular conservado (capítulo 43). Los individuos se infectan cuando se introduce el virus de fuentes exógenas.

Clasificación

Se han aislado lentivirus de innumerables especies (cuadro 44-2) que incluyen más de dos docenas provenientes de especies de primates africanos no humanos. Se conocen dos tipos diferentes de virus de sida humano: VIH-1 y VIH-2. Ambos se diferencian por características de la organización de su genoma, y las relaciones filogenéticas (evolutivas), con otros lentivirus de primates. La divergencia en secuencias entre los dos tipos de virus rebasa 50 por ciento.

Con base en las secuencias del gen *env*, el VIH-1 abarca tres grupos virales diferentes (M, N y O); el grupo M es el predominante e incluye como mínimo 11 subtipos o "*clados*" (A-K). También se han identificado formas recombinantes de virus en la circulación de seres humanos en diferentes regiones geográficas. En forma similar, se han detectado ocho subtipos de VIH-2 (A-H); dentro de cada subtipo existe una gran variabilidad, y los clados genéticos no parecen corresponder





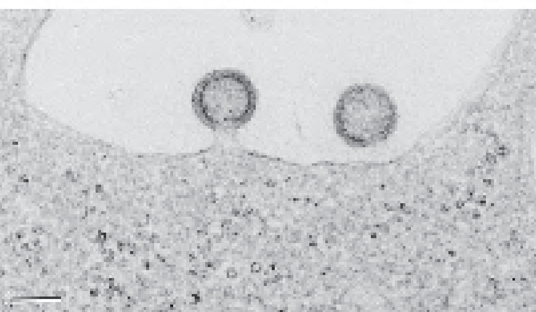
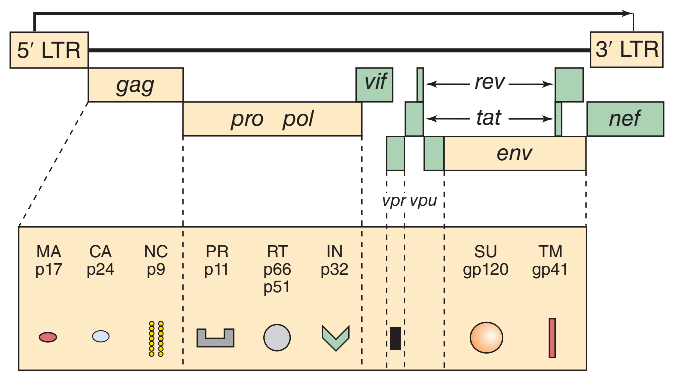


FIGURA 44-1 Micrografía electrónica de linfocitos infectados por el VIH, en que se observa una gran acumulación de virus recién producidos, en la superficie celular (imagen superior, 46 450×, barra = 100 nm); virus recién formados eclosionan a través de la membrana citoplásmica (**esquina inferior izquierda**, 49 000×, barra = 100 nm); dos viriones a punto de desprenderse de la superficie celular (**esquina inferior derecha**, 75 140×, barra = 100 nm).



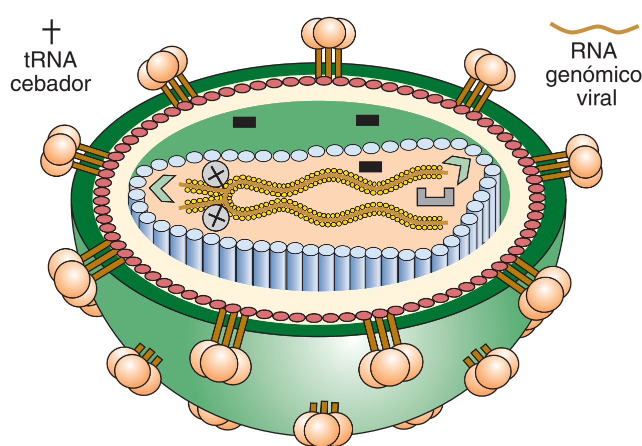


FIGURA 44-2 Genoma del VIH y estructura del virión. El genoma se muestra en la mitad superior. Las proteínas del virus son sintetizadas en la forma de poliproteínas precursoras (Gag-Pol [Pr160], Gag [pr55], y Env [gp160]), que son modificadas enzimáticamente y así se generan las proteínas maduras del virión. La proteasa viral PR desdobla Gag-Pol y Gag para producir las proteínas de menor tamaño señaladas. Una Pr celular desdobla Env y así produce gp120 SU y gp41 TM. El sitio que ocupan las proteínas del virión dentro de la partícula viral está indicado por símbolos (mitad inferior de la figura). El VIH-2 y VIS no tienen el gen *vpu* pero contienen el gen *vpx*. (Reproducida con autorización de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. En Levy JA [editor]. *The Viruses*. Vol 4; *The Retroviridae*. Plenum, 1995. Modificada con autorización de Luciw PA, Shacklett BL. En: *HIV: Molecular Organization, Pathogenicity and Treatment*. Morrow WJW, Haigwood NL [editors]. Elsevier, 1993).

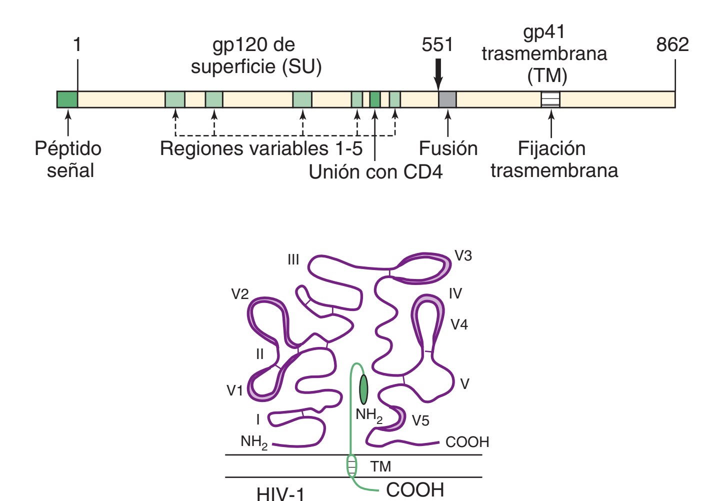


FIGURA 44-3 Proteínas de la cubierta de VIH-1. El polipéptido precursor de gp160 se señala en la mitad superior del esquema. La subunidad gp120 está fuera de la célula y la gp41 es una proteína transmembranal. Los dominios hipervariables en gp120 han sido designados V1 hasta V5; se señalan las posiciones de los enlaces de disulfuro en la forma de líneas que conectan el interior de las asas. Regiones importantes de la subunidad gp41 son el dominio de fusión en el extremo amino terminal y en el dominio transmembrana (TM). Los dominios amino (NH_2) y carboxilo (COOH) terminales, han sido marcados en ambas subunidades. (Reproducida con autorización de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. En Levy JA [editor]. *The Viruses*. Vol 4; *The Retroviridae*. Plenum, 1995. Modificada con autorización de Myers G, *et al.*: *Human Retroviruses and AIDS 1993; A compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group T-10, Los Alamos National Library, Los Alamos, New Mexico.)

con los grupos serotípicos de neutralización y no hay pruebas de que difieran las características biológicas o patogenia de los subtipos.

Se han obtenido numerosos aislamientos de lentivirus a partir de especies de primates no humanos. Estos lentivirus de primates pertenecen a seis grandes líneas filogenéticas (cuadro 44-2). Se considera que el VIS de los mangabeyes ahumados (un tipo de mono de África occidental) y el VIH-2 son variantes del mismo virus, como lo son los lentivirus de chimpancé y el VIH-1. Los VIS de monos verdes africanos, monos de Sykes, mandriles y monos colobos representan líneas adicionales independientes.

La organización de los genomas de los lentivirus de primates (humanos y simios) es muy similar. Una de las diferencias reside en que el VIH-1 y el virus del chimpancé portan un gen *vpu*, en tanto que el VIH-2 y el grupo VIS_{sm} tienen un gen *vpx*. Otros miembros de VIS no tienen genes *vpu* ni *vpx*.

Las secuencias de los genes *gag* y *pol* son altamente conservadas. Se advierten diferencias notables en los genes de las glucoproteínas de la cubierta; las secuencias de la porción transmembrana de la proteína están más conservadas que las secuencias de las glucoproteínas externas (el componente proteínico expuesto al exterior de la partícula viral).

Al parecer los VIS no son patógenos para sus especies de origen (hospedadores como el mono verde africano y el mono mangabey ahumado), de las que se sabe están infectadas en su hábitat natural. Sin embargo, SIV_{cpz}, precursor del VIH-1, en estado natural es patógeno para chimpancés, y origina un cuadro patológico similar al sida y muerte prematura. A diferencia de ello, los monos rhesus no están infectados en forma natural en las zonas silvestres en Asia, pero son susceptibles a la inducción de sida simio por diversos VIS. El primer virus identificado de monos rhesus en cautiverio (VIS_{mac}) fue la cepa VIH-2 del mangabey ahumado.

Los lentivirus que no afectan primates originan infecciones persistentes en varias especies animales; causan enfermedades debilitantes crónicas y a veces inmunodeficiencia. El agente prototipo de éstos, es el virus visna (llamado también maedi), causa síntomas neurológicos o neumonía en ovejas de Islandia. Otros virus originan anemia infecciosa en caballos, y artritis y encefalitis en cabras. Los lentivirus de felinos y bovinos pueden causar una inmunodeficiencia. Los lentivirus no primates no se conoce que infecten a ningún primate, incluidos los seres humanos.

apter 44_Carroll_4R.indd 641 15/04/16

CUADRO 44-2 Miembros representativos del género *Lentivirus*

Origen de los virus	Virus	Enfermedades
Humanos	VIH-1[a]	Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (sida)
	VIH-2	
Primates no humanos[b]		sida de simios
Chimpancé	VIS_{cpz}	
Mangabey ahumado	VIS_{sm}	
Macacos[c]	VIS_{mac}	
Mono verde africano	VIS_{agm}	
Mono Sykes	VIS_{syk}	
Mandril	VIS_{mnd}	
Mono L'Hoest[c]	VIS_{lhoest}	
Mono colobus	VIS_{col}	
No primates[d]		
Gato	Virus de inmunodeficiencia de felinos	sida de felinos
Vaca	Virus de inmunodeficiencia de bovinos	sida de bovinos
Oveja	Virus visna/maedi	Enfermedad de pulmones y de sistema nervioso central
Caballo	Virus de la anemia infecciosa de equinos	Anemia
Cabra	Virus de la encefalitis y la artritis caprinas	Artritis y encefalitis

[a] VIH-1 y VIH-2 (VIH) fueron transmitidos de especies cruzadas de VIS_{cpz} y VIS_{sm}, respectivamente.

[b] La enfermedad no es causada en el hospedador original por VIS_s pero necesita transmisión a una especie diferente de mono (la especie más susceptible a la enfermedad es el rhesus). Los macacos asiáticos (rhesus) no muestran manifestaciones de infección por el VIS en estado salvaje; es probable que el VIS_{sm} fuera introducido a los macacos en cautiverio.

[c] La indentación señala que el virus pertenece a la misma línea filogenética que el anterior.

[d] Los lentivirus que afectan a especies diferentes de primates causan enfermedad en la especie de origen.

Origen del sida

El VIH de seres humanos fue producto del virus de simios en zonas rurales de África, a través de infecciones cruzadas entre especies, probablemente por el contacto directo de personas con sangre infectada de primates. Los datos actuales señalan que los equivalentes de VIH-1 y VIH-2 de primates fueron transmitidos a personas en múltiples ocasiones distintas (siete, como mínimo). Los análisis de evolución de secuencias sitúan por 1930 la introducción de VIS_{cpz}, a las personas, lo cual dio origen al VIH-1 del grupo M, si bien algunas estimaciones indican que tal fecha fue anterior, hacia 1908. Es probable que las transmisiones en cuestión se produjeran repetidas veces a través de las décadas, pero a mediados del siglo anterior cambios sociales, económicos y conductuales particulares generaron circunstancias que permitieron la expansión, el establecimiento definitivo en seres humanos y el ataque de dichas infecciones por virus en proporciones epidémicas.

Desinfección e inactivación

El VIH queda totalmente inactivado ($\geq 10^5$ unidades de infectividad) al ser tratados durante 10 min a temperatura ambiental con cualquiera de las siguientes sustancias: blanqueadores caseros al 10% (cloro); etanol al 50%; isopropanol al 35%; Nonidet P40 al 1%, Lysol al 0.5%; paraformaldehído al 0.5% o peróxido de hidrógeno al 0.3%. El virus también es inactivado en los extremos de pH (pH 1.0; pH 13.0). Si el virus está presente en sangre coagulada o sin coagular en una aguja o una jeringa, para inactivarlo se necesita exponerlo al blanqueador concentrado durante 30 s, como mínimo.

El virus no es inactivado por Tween 20 al 2.5%. El paraformaldehído lo inactiva si la partícula está libre en solución, pero no se sabe si la sustancia penetra los tejidos en grado suficiente para inactivar a todos los virus que estarían presentes en células de cultivo o muestras de tejido.

El VIH es inactivado fácilmente en líquidos o suero al 10% si se les calienta a 56 °C durante 10 min, pero el material proteináceo seco lo protege en grado extraordinario. Sería necesario calentar a 68 °C los hemoderivados liofilizados, durante 72 h, para tener la seguridad de que los virus contaminantes quedaron inactivados.

Sistemas de Lentivirus de animales

Gracias a lo aprendido en infecciones experimentales, incluidas las de ovejas con virus visna (cuadro 44-2), se han acumulado datos de las características biológicas de las infecciones por lentivirus. De una especie a otra varían las características de la enfermedad natural, aunque se han identificado signos comunes en todas ellas.

1. Los virus son transmitidos por el intercambio de líquidos corporales.
2. Los virus persisten indefinidamente en los hospedadores infectados, aunque pueden estar en número pequeñísimo.
3. Los virus muestran grandes índices de mutación y surgirán mutantes diferentes en situaciones distintas (factores del hospedador, respuestas inmunitarias y tipos de tejido). Los hospedadores infectados contienen "cúmulos" de genomas virales muy similares conocidos como cuasiespecies.
4. La infección por virus evoluciona lentamente y pasa por etapas específicas. Las células de la línea de macrófagos interviene decisivamente en la infección. Los lentivirus difieren de otros retrovirus en que infectan células en diferenciación terminal que no se dividen. Sin embargo, tales células deben ser activadas para que se produzca la replicación y con ello los virus hijos. El virus depende de las células como monocitos y macrófagos, pero infecta solamente una célula de cada millón. Los monocitos transportan los

virus en el organismo en una forma que no los reconoce el sistema inmunitario y así siembran otros tejidos. Las cepas de virus linfotrópicas tienden a ocasionar infecciones altamente productivas, en tanto que la replicación de virus macrofagotrópicos es limitada.

5. Puede tomar muchos años para que la enfermedad se desarrolle. Los hospedadores infectados por lo común producen anticuerpos, pero no eliminan la infección y de ese modo el virus persiste durante toda la vida. Surgen periódicamente en los hospedadores nuevas variantes antigénicas y muchas de las mutaciones se producen en las glucoproteínas de la cubierta. Pueden aparecer síntomas clínicos en cualquier momento a partir de los tres meses hasta varios años después de la infección. Las excepciones de periodos de incubación largos en el caso de enfermedades por lentivirus incluyen sida en niños, anemia infecciosa en caballos y encefalitis en cabras jóvenes.

Entre los factores del hospedador que son importantes en la patogenia de la enfermedad están la edad (los sujetos más jóvenes están expuestos a mayor peligro), estrés (puede desencadenar la enfermedad), factores genéticos (algunas razas de animales son más susceptibles) e infecciones coexistentes (pueden exacerbar la enfermedad o facilitar la transmisión del virus).

Las enfermedades en los ungulados (caballos, ganado vacuno, ovejas y cabras) no son complicadas por infecciones secundarias por oportunistas. El virus de la anemia infecciosa equina se puede propagar entre caballos por intervención de los tábanos hematófagos y es el único lentivirus transmitido por un insecto vector.

Los lentivirus de simios comparten características moleculares y biológicas con el VIH y causan una enfermedad similar al sida en macacos rhesus. El modelo del virus de inmunodeficiencia de simios es importante para conocer la patogenia de la enfermedad y desarrollar una vacuna y estrategias terapéuticas.

Receptores de los virus

Todos los lentivirus de primates utilizan como receptor a la molécula CD4, que se expresa en macrófagos y en linfocitos T. Para que el VIH-1 penetre en las células además de la molécula CD4 se necesita un correceptor. Este correceptor se requiere para la fusión del virus con la membrana celular. El virus en primer lugar se fija a la molécula CD4 y después al correceptor. Estas interacciones ocasionan cambios en la conformación de la cubierta viral, con activación del péptido de fusión gp41 y el inicio del mecanismo de fusión con la membrana. Los receptores de quimiocinas actúan como correceptores del VIH-1. (Las quimiocinas son factores solubles que tienen propiedades de quimioatracción y de citocinas.) El receptor CCR5 de quimiocinas (CCR5; *chemokine receptor type 5*), que es el receptor para las quimiocinas RANTES (regulado en la activación, expresado y secretado por células T), MIP-1α y MIP-1β (proteínas inflamatorias de macrófagos), constituye el correceptor predominante para las cepas macrofagotrópicas de VIH-1. Por su parte el receptor CXCR4 (CXCR4; *Coxsackie chemokine receptor 4*), es el receptor para la quimiocina SDF-1 (SDF-1; *stromal cell-derived factor 1*), es el correceptor de las cepas linfotrópicas del VIH-1. Los receptores de quimiocina utilizados por el VIH para penetrar en la célula se identifican en linfocitos, macrófagos y timocitos, así como en neuronas y células del colon y del cuello uterino. Las personas que tienen deleciones homocigóticas en CCR5 y producen formas mutantes de esa proteína, pudieran estar protegidas contra la infección por el VIH-1; las mutaciones en el promotor del gen CCR5 al parecer lentifican la progresión de la enfermedad. La necesidad de que participe un correceptor para la fusión del VIH con las células abrió nuevos blancos farmacológicos para el desarrollo de estrategias antivirales; en 2003 en Estados Unidos se aprobó el primer inhibidor de la penetración de virus de inmunodeficiencia humana.

Otra molécula, la integrina α-4 β-7, al parecer actúa como receptor del virus de inmunodeficiencia humana en el intestino. Por su parte, parece ser que la lectina específica de células dendríticas (DC-SIGN) se liga a VIH-1, pero no media la penetración en las células, sino que facilita el transporte de VIH por las células dendríticas a órganos linfoides y promueve la infección de los linfocitos T.

INFECCIONES POR VIH EN SERES HUMANOS

Patogenia y aspectos patológicos

A. Aspectos generales de la evolución de la infección por VIH

La evolución típica de la infección por VIH no tratada puede extenderse a lo largo de un decenio (figura 44-4). Las etapas incluyen la infección primaria, la diseminación del virus a órganos linfoides, la fase de latencia clínica, la mayor expresión de VIH, la aparición de enfermedad clínica y la muerte. El lapso que media entre la infección primaria y la progresión hasta llegar a la enfermedad clínica es en promedio de 10 años. Los sujetos no tratados suelen morir en un plazo de dos años de haber comenzado los síntomas clínicos.

Después de la infección primaria hay un lapso de cuatro a 11 días entre la infección de la mucosa y la viremia inicial; la cual es detectable por ocho a 12 semanas. En este lapso se disemina ampliamente el virus en todo el organismo y queda latente en órganos linfoides. En muchos enfermos (50 a 75%), tres a seis semanas después de la infección primaria aparece un síndrome agudo similar a la mononucleosis. En esta fase temprana disminuye notablemente el número de linfocitos T CD4 circulantes. Una semana a tres meses después de la infección surge una respuesta inmunitaria al VIH, disminuye el número de virus en el plasma y aumentan los niveles de linfocitos CD4. Sin embargo, la respuesta inmunitaria no elimina del todo la infección y en los ganglios linfáticos persisten células infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana.

El periodo mencionado de latencia clínica puede durar incluso 10 años, y en ese lapso se advierte una muy intensa y constante replicación viral. Se calcula que se producen y destruyen cada día diez mil millones de partículas de virus de inmunodeficiencia humana. La vida media del virus en el plasma es de unas 6 h y el ciclo vital del virus (desde el momento de la infección de una célula hasta que surgen nuevos hijos, que infectan a las células siguientes), es en promedio de 2.6 días. Los

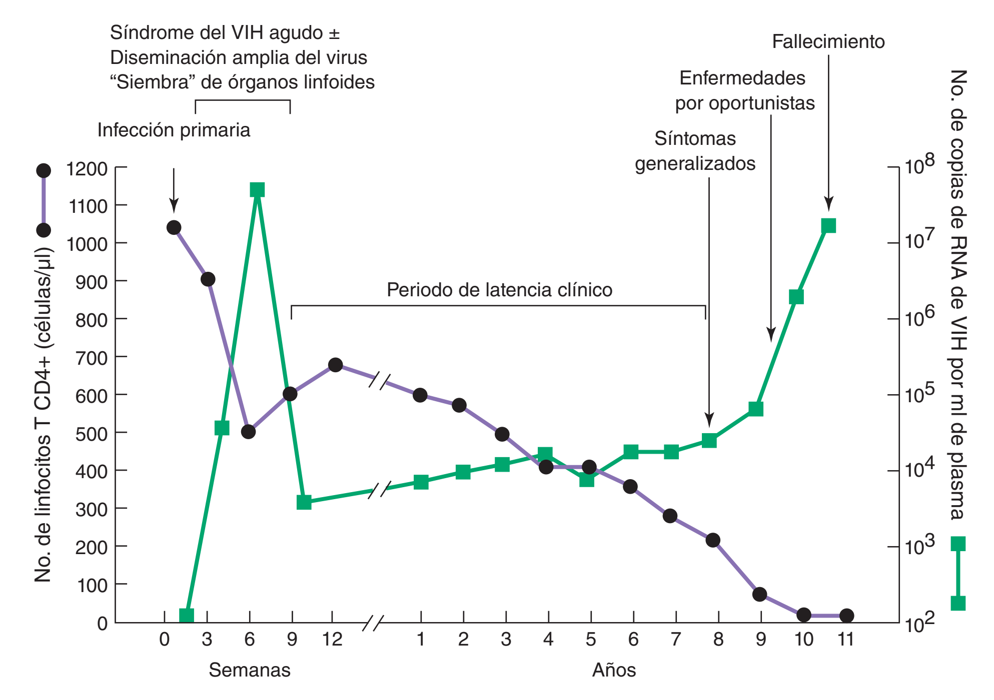


FIGURA 44-4 Evolución típica de una infección por VIH sin tratamiento. En el periodo temprano después de la infección primaria se observa diseminación extensa del virus y un decremento neto en el número de linfocitos T CD4 en sangre periférica. Se desencadena una respuesta inmunitaria al virus, con disminución de la viremia detectable, seguida de un periodo duradero de latencia clínica. Por medio de los métodos sensibles para detectar RNA del virus se advierte que tal partícula está presente en el plasma en todo momento. El número de linfocitos T CD4 sigue disminuyendo en los años siguientes hasta llegar a un nivel crítico, por debajo del cual surge el peligro notable de enfermedades oportunistas. (Reproducida con autorización de Fauci AS, Lane HC: Human immunodeficiency virus disease: AIDS and related disorders. En Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, *et al.*: [editors]. *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 18a. ed. McGraw-Hill, 2012. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

linfocitos T CD4, parecen tener altas tasas de recambio, y son las principales células blanco de las que depende la replicación del virus. Aproximadamente la semivida de los linfocitos mencionados, una vez infectados en forma productiva es de 1.6 días.

Los estudios sobre diversidad viral han indicado que en muchos casos de transmisión sexual, una única variante del VIH es el elemento por el cual se establece una nueva infección. En los comienzos de ella las secuencias virales son muy homogéneas, pero ante la rápida proliferación de virus y la tasa de error inherente de la transcriptasa inversa del VIH, se acumulan cuasi-especies del virus. Se ha calculado que cada nucleótido del genoma de VIH probablemente muta diariamente.

Eventualmente el enfermo terminará por mostrar síntomas generales y enfermedad clínicamente manifiesta, en la forma de infecciones oportunistas o neoplasias. Es posible detectar fácilmente en el plasma cargas virales elevadas, en las etapas avanzadas de la infección. Las cepas del VIH que se encuentra en pacientes en la etapa tardía de la enfermedad, usualmente son mucho más virulentas y citopáticas que las halladas al inicio de la infección. A menudo, la progresión a sida se acompaña por un cambio del tropismo monocitotrópico o macrofagotrópico (M-trópico), al linfotrópico (T-trópico) del VIH-1.

B. Linfocitos T CD4, células de memoria y latencia

El signo cardinal de la infección por VIH es la depleción del número de los linfocitos T cooperadores-inductores, como consecuencia de la replicación del VIH en dicha población de células y también por la muerte de los linfocitos T no infectados, a través de mecanismos indirectos. Las células comentadas expresan el marcador fenotípico CD4 en su superficie y la molécula en cuestión constituye el principal receptor del virus, ésta posee notable afinidad por la cubierta viral. El correceptor de VIH sobre los linfocitos es el receptor de quimiocina CXCR4.

Al inicio de la infección las cepas principales aisladas son macrofagotrópicos (M-trópico). Sin embargo, todas las cepas del VIH infectan linfocitos T CD4 primarios (pero no las líneas de dichas células inmortalizadas *in vitro*). Al evolucionar la infección los virus M-trópicos dominantes son sustituidos por los T-trópicos. La adaptación de tales partículas primarias en el laboratorio, en las líneas de linfocitos T inmortalizadas, hace que pierdan su capacidad de infectar monocitos y macrófagos.

Las consecuencias de la disfunción de los linfocitos T CD4 causada por la infección por el VIH son devastadoras, porque los linfocitos mencionados intervienen de manera fundamental en la respuesta inmunitaria de los humanos. Son los encargados de manera directa o indirecta de inducir un conjunto muy amplio de funciones de células linfoides y no linfoides; dichos efectos incluyen activación de macrófagos, inducción de funciones de linfocitos citolíticos naturales y células B, así como la secreción de diversos factores solubles que inducen la proliferación y la diferenciación de células linfoides y que afectan las células hematopoyéticas.

En cualquier momento particular sólo una pequeña fracción de linfocitos T CD4 es infectada en forma productiva y muchas de las células con dicho ataque son destruidas, pero sobrevive una fracción y recupera su estado de célula de memoria en reposo. En las células de memoria es pequeña o nula la expresión del gen viral y de este modo permite que se convierta

en un reservorio latente, estable, a largo plazo del virus. Si la persona recibe un tratamiento antirretroviral exitoso menos de una célula por millón de linfocitos T CD4 en reposo albergarán provirus latentes de VIH-1. Incluso después de 10 años de tratamiento los pacientes presentan muy pequeños cambios en la magnitud del reservorio debido a que el reservorio de células de memoria infectadas por el VIH decae muy lentamente. Cuando son expuestas a antígeno o el tratamiento antirretroviral es suspendido, las células de memoria se activan y liberan viriones. Es posible que existan otros reservorios no sensibles a los fármacos antirretrovirales entre los macrófagos, células madre hematopoyéticas y/o en células cerebrales.

Es poco probable que la infección por el VIH pueda ser curada mediante el tratamiento estándar; si en el cuerpo hubiera un millón de células de memoria infectadas, se necesitaría el transcurso de unos 70 años para que terminaran por desaparecer. En fecha reciente hubo un reporte de una cura aparente. Un varón en Alemania, infectado por VIH desarrolló leucemia mieloide aguda que requirió hacerle un trasplante de médula ósea en el año 2007. Después de la anulación del sistema inmunitario del paciente se le trasplantaron células provenientes de un donante homocigoto respecto a la mutación del receptor CCR5 que lo protegió de la infección por el VIH. El paciente dejó de recibir antirretrovirales y cinco años más tarde no tuvo absolutamente viriones del VIH detectables. Este éxito aislado ha promovido las investigaciones para desarrollar mecanismos que “anulen” los reservorios de infección latente en sujetos infectados por el VIH.

C. Monocitos y macrófagos

Los dos tipos de células intervienen decisivamente en la diseminación y la patogenia de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana. Algunos subgrupos de monocitos expresan el antígeno de superficie CD4, y por ello se fijan en la cubierta del virus. El correceptor de dicho virus en los monocitos y macrófagos es el receptor de quimiocina CCR5. En el cerebro, los principales tipos celulares infectados por VIH al parecer son los monocitos y los macrófagos, y ello pudiera tener consecuencias importantes para la aparición de manifestaciones neuropsiquiátricas que acompañan a la infección por el virus de inmunodeficiencia humana.

Al inicio de la infección predominan las cepas macrofagotrópicas del VIH y éstas son las que originan las infecciones iniciales incluso si la fuente de transmisión contiene virus M-trópicos y T-trópicos.

Se ha pensado que los monocitos y los macrófagos constituyen reservorios importantes del VIH en el cuerpo. A diferencia del linfocito T CD4, el monocito es relativamente refractario a los efectos citopáticos de VIH y por ello el virus, además de sobrevivir en el interior de la célula, puede ser transportado por ella a diversos órganos como los pulmones y el cerebro. Los macrófagos infectados pueden seguir produciendo virus por largos periodos.

D. Órganos linfoides

Los órganos linfoides intervienen decisivamente en la infección por virus de inmunodeficiencia en humanos. Los linfocitos en la sangre periférica constituyen sólo alrededor de 2% del conjunto total de ellos y el resto de los linfocitos se encuentran en órganos linfoides; precisamente en estos últimos se generan las respuestas inmunitarias específicas. La red de células dendríticas foliculares en los centros germinales de los ganglios linfáticos atrapa antígenos y estimula la aparición de una respuesta inmunitaria. Durante toda la evolución de la infección no tratada (incluso durante la fase de latencia clínica), hay replicación activa del VIH en los tejidos linfoides. El microambiente del ganglio linfático es óptimo para que se establezca y propague la infección por el virus. Hay liberación de citocinas que activan un gran fondo común de linfocitos T CD4 que son muy susceptibles a la infección por el virus de inmunodeficiencia humana. Al evolucionar la enfermedad y llegar a etapas ulteriores se altera la arquitectura de los ganglios mencionados.

E. Coinfecciones virales

Para que se establezca una infección productiva por el VIH se requieren señales de activación. En la persona infectada por dicho virus al parecer actúan como activadores celulares muy diversos estímulos antigénicos *in vivo*. Por ejemplo, la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis* incrementa sustancialmente la viremia plasmática. Los efectos lesivos del VIH en el sistema inmunitario hacen que los pacientes queden vulnerables a muchos tipos de infecciones. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que la infección por VIH incrementa 20 veces el riesgo de contraer tuberculosis. De los 9 millones de nuevos casos de tuberculosis a nivel mundial en el 2007, se calcula que 15% ocurrieron en personas infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana.

Otras infecciones virales concomitantes, como serían las causadas por los virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus del herpes simple o virus de la hepatitis B pueden actuar como cofactores del desarrollo de sida. Una causa importante de morbilidad y mortalidad en personas infectadas por el VIH es la infección coexistente con el virus de la hepatitis C, la cual ocurre en 15 a 20% de los pacientes con VIH en Estados Unidos y que suele ocasionar una hepatopatía. Se observa una elevada prevalencia de infección causada por citomegalovirus en sujetos VIH-positivos.

Pueden ocurrir coinfecciones con dos cepas diferentes del virus de inmunodeficiencia humana. Se han publicado casos probados de súperinfección por una segunda cepa en una persona infectada por el VIH, incluso en caso de haber una potente respuesta de linfocitos T CD8 contra la primera cepa. Se considera que la súperinfección por VIH es un evento raro.

Manifestaciones clínicas

Los síntomas y signos de la infección aguda por el VIH son inespecíficos e incluyen fatiga, erupciones, cefalea, náusea y sudación nocturna. El sida se caracteriza por depresión notable del sistema inmunitario y la aparición de muy diversas infecciones graves oportunistas o neoplasias poco comunes (en particular el sarcoma de Kaposi). Las manifestaciones más graves en adultos suelen ser antecedidas de un pródromo (“diarrea y deterioro”) que incluye fatiga, malestar general, pérdida de peso, falta de aire, diarrea crónica, zonas blancas en la lengua (leucoplasia pilosa y candidiasis oral) y linfadenopatía. Una causa importante de debilidad son las manifestaciones patológicas en el tracto gastrointestinal, desde el esófago hasta el

colon. Sin tratamiento, el intervalo entre la infección primaria por VIH y las primeras manifestaciones de la enfermedad clínica suele ser largo en los adultos, promediando de ocho a 10 años. La muerte ocurre aproximadamente 2 años más tarde.

A. Carga viral plasmática

El número de partículas del VIH en la sangre (carga viral o viremia) tiene notable valor pronóstico. En cada paciente continuamente hay ciclos de replicación viral y destrucción celular y el nivel de los virus en la sangre (en equilibrio dinámico) (punto prefijado) varía de una persona a otra durante el periodo asintomático. Dicho nivel refleja el número total de células infectadas en forma productiva y su tamaño promedio en el momento de la descarga o eclosión. Por medio de una sola medición del número de virus en plasma cada seis meses después de la infección, se puede predecir el riesgo ulterior del desarrollo de sida en varones varios años después, en ausencia de tratamiento (figura 44-5). Los puntos prefijados altos tienden a guardar relación con la evolución rápida de la enfermedad y con respuestas más inadecuadas al tratamiento. Sin embargo, datos más recientes sugieren una diferencia en dicho parámetro en función del género; en las mujeres la carga viral puede tener un valor predictivo menor de progresión al sida. Es posible cuantificar los niveles de RNA plasmáticos del VIH por medio de diversos métodos o ensayos comercialmente disponibles. La carga viral en plasma al parecer constituye el elemento que mejor permite predecir el pronóstico clínico a largo plazo, en tanto que el número de linfocitos CD4 constituye el mejor predictor del riesgo a corto plazo de desarrollar una enfermedad oportunista. La carga viral plasmática constituye un elemento decisivo para evaluar la eficacia de los tratamientos antirretrovirales.

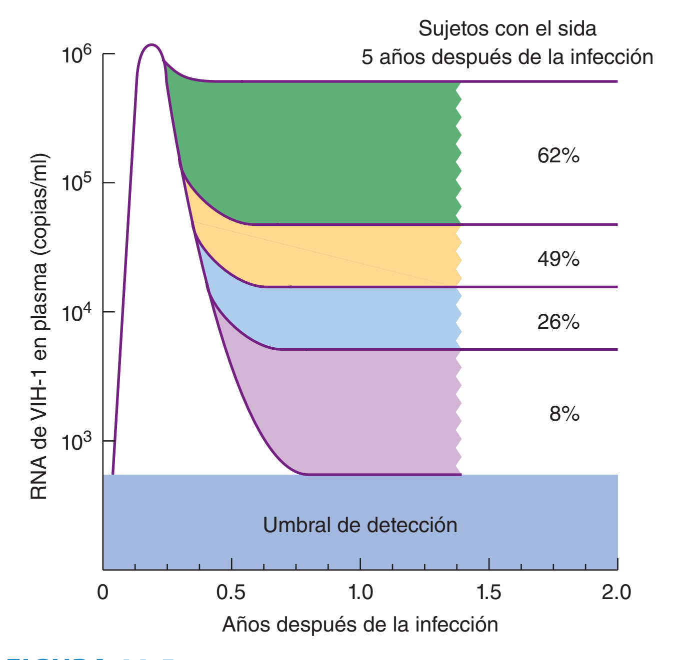


FIGURA 44-5 Utilidad de los niveles de RNA del VIH-1 plasmático en el pronóstico (carga o número de virus). El límite prefijado en cuanto al virus, anticipa los resultados clínicos a largo plazo. (Con autorización de Ho DD: Viral counts count in HIV infection. *Science* 1996;272:1124. Reimpreso con autorización de AAAS.)

B. Sida en niños

Las respuestas de recién nacidos infectados son distintas de las que se observan en adultos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. El comienzo del sida en niños (enfermedad adquirida de su madre infectada) suele incluir síntomas clínicos a los dos años de vida; dos años más tarde el pequeño muere. El recién nacido es en particular susceptible a los efectos devastadores del VIH porque para la fecha de la infección primaria no se ha desarrollado su sistema inmunitario. Las manifestaciones clínicas pueden incluir neumonitis intersticial linfoide, neumonía, candidosis oral severa, encefalopatía, síndrome de desgaste, linfadenopatía generalizada, sepsis bacteriana, hepatoesplenomegalia, diarrea y retraso del crecimiento.

Los niños con infección por VIH-1 adquirida en fase perinatal (*sin tratamiento*), tienen un pronóstico totalmente insatisfactorio. En los primeros años de vida se advierte muy a menudo una evolución acelerada de la enfermedad. Las concentraciones altas de carga viral del VIH-1 en plasma al parecer señalan anticipadamente a los lactantes en riesgo de que su enfermedad progrese con rapidez. Las características de la replicación viral en los lactantes difieren de la de los adultos. Los niveles de la carga de RNA viral por lo común son pequeños en el nacimiento, lo cual sugiere que el contagio de la infección se produjo en una fecha muy cercana a ese momento. Los niveles de RNA a partir de esa fecha aumentan rápidamente en los primeros 2 meses de vida y después hay una disminución lenta hasta los 24 meses de edad, lo cual sugiere que el sistema inmunitario inmaduro difícilmente frenó la infección. Un porcentaje pequeño de lactantes (5% o menos) presentan infecciones transitorias por el VIH, lo cual sugiere que algunos de ellos pueden eliminar el virus.

C. Enfermedad del sistema nervioso

La disfunción del sistema nervioso aparece a menudo en personas infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana. Se sabe que 40 a 90% de los pacientes muestran síntomas neurológicos y en muchos casos en la necropsia se identifican anormalidades neuropatológicas.

Entre los síndromes neurológicos distintivos que aparecen a menudo están encefalitis subaguda, mielopatía vacuolar, meningitis aséptica y neuropatía periférica. En 25 a 65% de los enfermos de sida, como manifestación tardía surge el complejo de demencia por sida, que es el síndrome neurológico más común y se caracteriza por deficiencias de la memoria, incapacidad de concentración, apatía, retraso psicomotor y cambios conductuales. Otras enfermedades del sistema nervioso que surgen junto con la infección por VIH comprenden toxoplasmosis, criptococosis, linfoma primario del sistema nervioso central y leucoencefalopatía multifocal progresiva inducida por el virus JC. La media de supervivencia desde que comienza la demencia grave suele ser menor de seis meses.

Los niños enfermos de sida también presentan anormalidades del sistema nervioso que incluyen cuadros convulsivos, pérdida progresiva de los puntos definitorios conductuales y del desarrollo; encefalopatía, trastornos de déficit de atención y retrasos del desarrollo. La encefalopatía por el VIH puede afectar incluso al 12% de los niños, y suele acompañarse de profunda deficiencia inmunitaria. Los patógenos bacterianos

predominan en el sida de niños como la causa más frecuente de meningitis.

Conforme los niños nacidos de madres infectadas por el VIH llegan a la adolescencia y la vida adulta, gracias al tratamiento antirretroviral, muchos al parecer están expuestos a un gran riesgo de mostrar trastornos psiquiátricos, y los más comunes son trastornos de ansiedad.

D. Infecciones por oportunistas

Las causas predominantes de morbilidad y de mortalidad en personas en fase tardía de la infección por el VIH son las infecciones por oportunistas, es decir, cuadros graves inducidos por agentes que rara vez causan una enfermedad importante en la persona inmunocompetente. Las infecciones antes mencionadas por lo común no aparecen en sujetos infectados por el VIH hasta que el número de linfocitos T CD4 ha disminuido del nivel normal de 1 000 células/μl, a menos de 200 células. Conforme se han desarrollado tratamientos contra algunos de los patógenos oportunistas más comunes y la atención de los enfermos de sida permite que sobrevivan mayor tiempo, ha cambiado el espectro de infecciones oportunistas.

Las infecciones oportunistas más comunes en enfermos de sida no tratados incluyen las causadas por:

1. Protozoarios: *Toxoplasma gondii, Isospora belli, Cryptosporidium* spp.
2. Hongos: *Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Pneumocystis jiroveci.*
3. Bacterias: *Mycobacterium avium-intracellulare, M. tuberculosis, Listeria monocytogenes, Nocardia asteroides, Salmonella* spp. y *Streptococus* spp.
4. Virus: citomegalovirus, virus del herpes simple, virus de varicela-zóster, adenovirus, virus JC, virus de hepatitis B y C.

Las infecciones por herpesvirus son frecuentes en enfermos de sida y a menudo se detectan en la saliva múltiples partículas virales de ese tipo. La retinitis por citomegalovirus es la complicación ocular más común y grave del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

E. Cáncer

Las personas con sida tienen una enorme predisposición a la aparición de cánceres que es otra consecuencia de la depresión inmunitaria. Los cánceres en dicha situación corresponden a los causados por un virus como cofactor e incluyen el linfoma no-Hodgkin (de los tipos sistémico y del sistema nervioso central), el sarcoma de Kaposi, el cáncer cervicouterino y los de la zona anogenital. En la mayor parte de los cánceres de células B clasificados como linfoma de Burkitt y los del sistema nervioso central (pero no en muchos de los linfomas sistémicos) se identifica DNA viral de Epstein-Barr. La frecuencia del linfoma de Burkitt es 1 000 veces mayor en enfermos de sida que en la población general.

El sarcoma de Kaposi es un tumor vascular que, en opinión de los expertos, proviene del endotelio y aparece en la piel, las mucosas, los ganglios linfáticos y algunas vísceras. Antes de que se observara dicho cáncer en los enfermos de sida se consideraba que era muy raro. El sarcoma mencionado tiene una frecuencia 20 000 veces mayor en enfermos de sida no tratados que en la población general. Al parecer hay una relación causal de esta neoplasia con el herpes virus vinculado con el sarcoma en cuestión o HHV8 (capítulo 33). El cáncer cervicouterino es causado por los virus del papiloma considerados de alto riesgo; los de la zona anogenital también surgen como consecuencias de infecciones coexistentes con virus de papiloma humano (capítulo 43).

El uso de antirretrovirales eficaces ha logrado la disminución notable en la frecuencia del sarcoma de Kaposi, aunque no ha modificado la incidencia de los linfomas no-Hodgkin en personas infectadas por el virus de inmunodeficiencia en humanos.

Dado que los sujetos infectados por el virus viven más tiempo por acción de los antirretrovirales eficaces, terminan por mostrar cánceres de muy diverso tipo con una frecuencia mayor que la población no infectada; tales neoplasias que surgen junto con el VIH incluyen los cánceres de la cabeza y el cuello, el pulmón, el linfoma de Hodgkin, el cáncer de hígado, el melanoma y el de la cavidad oral. Al parecer no aumenta el riesgo de cánceres de mama, el colon o la próstata.

CUADRO 44-3 Principales productos génicos de VIH útiles en el diagnóstico de la infección

Producto génico[a]	Descripción
gp160[b]	Precursor de las glucoproteínas de cubierta
gp120[b]	Glucoproteína de cubierta externa del virión SU[c]
p66	Transcriptasa inversa y RNasa H del producto génico de la polimerasa
p55	Precursor de proteínas centrales; poliproteína proveniente del gen *gag*
p51	Transcriptasa inversa, RT
gp41[b]	Glucoproteína de la cubierta transmembranal, TM
p32	Integrasa, IN
p24[b]	Proteína central de nucleocápside del virión, CA
p17	Proteína del centro-matriz del virión, MA

[a] El número denota la masa molecular aproximada de la proteína en kilodaltones.
[b] Los anticuerpos a dichas proteínas virales son los detectados más frecuentemente.
[c] Abreviatura de dos letras que corresponde a la proteína viral.

Inmunidad

Las personas infectadas por el VIH generan respuestas mediadas por células y de tipo humoral contra los antígenos propios del virus. Poco después de la infección aparecen los anticuerpos contra diversos antígenos frecuentes en esas partículas (cuadro 44-3).

La mayoría de los individuos infectados sintetizan anticuerpos neutralizantes contra el VIH, dirigidos contra la glucoproteína de la cubierta. Sin embargo, los niveles de su actividad neutralizante son bajos y muchos de los anticuerpos contra la cubierta no poseen tal acción. Se piensa que la densa glucosilación puede inhibir la unión del anticuerpo neutralizante a la proteína de la cubierta; la glucoproteína de la cubierta muestra enorme variabilidad en su secuencia, y dicha variación natural permite la evolución de poblaciones sucesivas de

virus resistentes que no son reconocidos por los anticuerpos neutralizantes existentes.

Los anticuerpos neutralizantes se miden *in vitro* al inhibir la infección del VIH, de líneas de linfocitos susceptibles. La infección por los virus se cuantifica por medio de: 1) la técnica de transcriptasa inversa que mide la actividad enzimática de las partículas del VIH liberadas; 2) el método de inmunofluorescencia indirecta, que mide el porcentaje de células infectadas y 3) la reacción en cadena de polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR; *reverse transcriptase polymerase chain reaction*) o técnicas de amplificación del DNA de cadena ramificada (bDNA), que miden los ácidos nucleicos del virus de inmunodeficiencia humana.

Surgen respuestas de tipo celular dirigidas contra las proteínas del virus de inmunodeficiencia humana. Los linfocitos T citotóxicos (CTL; *cytotoxic T lymphocytes*) reconocen los productos de los genes *env, pol, gag* y *nef* y dicha reactividad es mediada por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad en la superficie de los linfocitos CD3-CD8. La reactividad específica hacia *env* aparece en casi todas las personas infectadas y disminuye con la progresión de la enfermedad. También se ha detectado actividad de linfocitos citolíticos naturales (NK; *natural killer*) contra la gp120 del VIH-1.

No se ha dilucidado cuáles respuestas del hospedador son importantes para proteger contra la infección por el VIH o el desarrollo de la enfermedad. Un problema que afrontan quienes investigan la posibilidad de una vacuna contra el sida es que se desconocen los hechos correlacionados de la inmunidad protectora, que incluyen la importancia relativa de las respuestas inmunitarias humorales o las mediadas por células.

Diagnóstico de laboratorio

La infección por el VIH se detecta por tres métodos: 1) aislamiento del virus; 2) determinación serológica de anticuerpos contra el virus y 3) medición del ácido nucleico o los antígenos del virus.

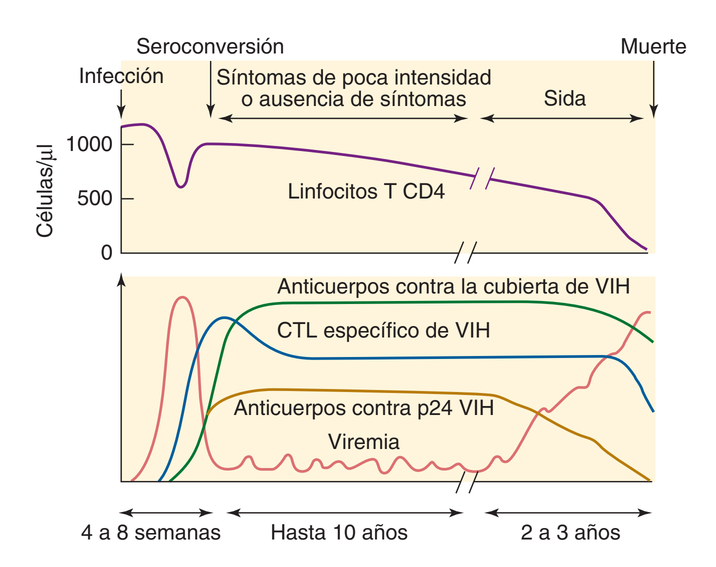


FIGURA 44-6 Características de las respuestas de anticuerpos contra el VIH, y su relación con la evolución de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana. (CTL, linfocitos T citotóxicos). (Reproducida con autorización de Weiss RA: How does HIV cause AIDS? *Science* 1993;260:1273. Reimpresa con autorización de AAAS.)

A. Aislamiento del virus

El VIH puede ser cultivado de los linfocitos de la sangre periférica (y a veces de muestras de otros sitios). El número de linfocitos infectados circulantes varía con la etapa de la enfermedad (figura 44-4). En los pacientes con sida se encuentran títulos más elevados del virus en el plasma y en las células sanguíneas periféricas en comparación con lo observado con personas asintomáticas. La magnitud de la viremia al parecer tiene una mejor correlación con la etapa clínica de la infección que la misma presencia de anticuerpos (figura 44-6). La técnica de aislamiento más sensible es cultivar conjuntamente la muestra problema con células mononucleares no infectadas de sangre periférica, estimuladas por un mitógeno. Los aislamientos primarios del VIH tienen una proliferación menor en comparación con las cepas adaptadas en el laboratorio. La proliferación de los virus se detecta al estudiar los líquidos sobrenadantes del cultivo después de siete a 14 días, para detectar la actividad de la transcriptasa inversa o los antígenos específicos del virus (p24).

La gran mayoría de sujetos con anticuerpos contra el VIH-1 (seropositividad) tendrán el virus, que se puede cultivar a partir de sus células sanguíneas. Sin embargo, las técnicas de aislamiento son lentas, laboriosas y se circunscriben a estudios de investigación. Las técnicas de amplificación por PCR se utilizan más a menudo para identificar el virus en muestras clínicas.

B. Serología

Comercialmente se consiguen equipos de pruebas para medir anticuerpos, con la técnica de enzimoinmunoanálisis (EIA; *enzyme-linked immunoassay*). Los métodos en cuestión, si se practican de manera apropiada, poseen sensibilidad y especificidad mayores de 98%. Cuando se usan los métodos basados en EIA para la detección de poblaciones con una pequeña prevalencia de infecciones por el VIH (como los donantes de sangre), al surgir un resultado reactivo en una muestra de suero habrá que repetirlo para su confirmación. Si la nueva prueba EIA es reactiva, se realizará una prueba confirmatoria para descartar resultados falsos positivos. La técnica más usada para la confirmación es el Western Blot, a través de la cual se detectan anticuerpos dirigidos contra proteínas con pesos moleculares conocidos. Comúnmente se identifican anticuerpos contra la proteína p24 del centro de la partícula o las glucoproteínas gp41, gp120 o gp160 de la cubierta. El resultado del Western blot puede ser inespecífico o negativo en las etapas tempranas de la infección y la detección del RNA viral es una forma alterna para confirmar el diagnóstico. La infección por el VIH-2 puede generar un resultado inespecífico por la prueba para el VIH-1 y requiere un Western blot por separado para el VIH-2 para confirmación.

Los patrones de respuestas contra antígenos específicos del virus cambian con el transcurso del tiempo y la evolución clínica hasta llegar al síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Se conserva el nivel de anticuerpos contra las glucoproteínas de la cubierta (gp41, gp120, gp160), pero disminuyen las dirigidas contra las proteínas Gag (p17, p24, p55). La disminución del nivel del anticuerpo contra p24 puede ser el signo que anticipe

el comienzo de las manifestaciones clínicas y otros marcadores inmunitarios de progresión de la enfermedad (figura 44-6).

En laboratorios que no cuentan con los medios para practicar EIA y en situaciones en que es imposible esperar los resultados de pruebas, se recurre a métodos sencillos y rápidos para detectar anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana. Tales métodos se realizan en sangre o fluido oral y se basan en principios como las reacciones de aglutinación de partículas o inmunodot. Son métodos rápidos que detectan anticuerpos contra el VIH en muestras de sangre completas en las que no se necesita preparación. Se pueden realizar fuera de los laboratorios comunes. El tiempo promedio para la seroconversión después de la infección por el VIH es de tres a cuatro semanas. Casi todas las personas mostrarán anticuerpos detectables en un plazo de seis a 12 semanas después de la infección y virtualmente todos los sujetos serán seropositivos en un plazo de seis meses. Muy pocas veces la infección por el VIH dura más de seis meses sin que surja una respuesta detectable de anticuerpos.

C. Detección de ácidos nucleicos o antígenos del virus

Para detectar RNA viral (NAT, *nucleic acid testing*) en muestras de seres humanos a menudo se utilizan técnicas de amplificación como RT-PCR, PCR de DNA y bDNA. El método de RT-PCR utiliza enzimas para amplificar el RNA del VIH; la técnica de bDNA amplifica RNA del virus por métodos de hibridación seriada de oligonucleótidos. Los métodos de índole molecular mencionados son muy sensibles y constituyen la base para la cuantificación de la carga viral en plasma. La heterogeneidad de las secuencias del VIH puede menoscabar la sensibilidad de estas técnicas para detectar infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana. Marcadores de predicción importantes son los niveles de RNA del VIH, que señalan la evolución de la enfermedad y constituyen medios útiles para vigilar la eficacia de las terapias antirretrovirales. Otro recurso para usar en vez de muestras de plasma, son las muestras de sangre seca "obtenidas en el momento" para el monitoreo viral en entornos con escasos recursos.

El diagnóstico temprano de infección por el VIH en hijos de madres infectadas se practica por medio de técnicas de detección del RNA del VIH-1 plasmático o bien por PCR para DNA sanguíneo para detectar DNA (proviral) integrado a los cromosomas. La presencia de anticuerpos de la madre hace que no sean útiles los estudios serológicos.

Poco después de la infección se detectan por medio de EIA en plasma, niveles bajos del antígeno p24 del VIH-1 circulante. El antígeno a menudo no se detecta después de que aparecen los anticuerpos (porque la proteína p24 forma complejos con los anticuerpos contra ella), pero a veces reaparece en la etapa tardía de la infección y tal signo conlleva un mal pronóstico. Las pruebas diagnósticas de cuarta generación para el VIH que incluyen la detección de anticuerpos contra el VIH y del antígeno p24 pueden reducir el tiempo durante el cual no se detecta la infección cuando se realizan pruebas serológicas tempranas. Esto resulta de importancia ya que los individuos en esta etapa presentan altos índices de viremia lo que les permite transmitir la infección con facilidad. Los ensayos para detectar el RNA viral (NAT) reducen este periodo infectivo y por lo general se llevan a cabo en pacientes en los que se sospecha infección por VIH, en profesionales de la salud que se han expuesto al virus por lesiones ocasionadas por la picadura de agujas, o en donadores de sangre.

D. Estudios de resistencia del VIH

La genotipificación del VIH es el método más frecuente para establecer la resistencia viral. Se lleva a cabo a través de la secuenciación de porciones de los genes de la transcriptasa inversa y de la proteasa para identificar mutaciones que se sabe confieren resistencia a los inhibidores de las proteínas codificadas por estos genes. Las mutaciones se identifican como promotoras de resistencia si permiten el crecimiento del virus en presencia del fármaco, o se asocian con fracasos en el tratamiento clínico. Las bases de datos que mantienen la International AIDS Society y la Universidad de Stanford se actualizan con mutaciones de resistencia recientemente identificadas. El diseño de un esquema de tratamiento es complicado, y requiere conocer los patrones de resistencia virales, las actividades de los fármacos, los efectos adversos y las interacciones de los mismos, por lo que en general se requiere de especialistas en el tratamiento del VIH.

También se dispone de pruebas para la VIH integrasa y para establecer la resistencia para el inhibidor de la fusión del virus. El tropismo para alguno de los correceptores es una prueba fenotípica que establece la probabilidad de que el virus responda o no a los fármacos antagonistas para CCR5.

Las pruebas fenotípicas de resistencia revisan el crecimiento del virus recombinante en presencia del fármaco antiviral. Los genes importantes (transcriptasa inversa, proteasa o integrasa) se clonan a partir del virus del paciente en una cepa de VIH de laboratorio y se establece la concentración de fármaco que inhiba en 50% la replicación viral. El valor de la relación entre la IC_{50} del virus del paciente y la IC_{50} del virus de referencia indica las veces de resistencia hacia el fármaco probado.

Se recomienda realizar la prueba de resistencia del VIH al momento del diagnóstico inicial y cuando el manejo farmacológico fracasa o cuando se detecta una reducción subóptima de la carga viral. La prueba de resistencia genotípica es el método estándar, sin embargo las pruebas fenotípicas pueden resultar de utilidad en pacientes con patrones complejos de mutaciones de resistencia.

Epidemiología

A. Propagación mundial del sida

El sida fue identificado por primera vez en 1981 en Estados Unidos como una nueva entidad patológica en varones homosexuales. Veinte años después se convirtió en una epidemia mundial que aún no cesa. Se ha estimado que 35 millones de personas a nivel mundial viven con VIH/sida y la mayor parte ha sido infectada por contactos heterosexuales (figura 44-7). Se calcula que en 2009 fallecieron de sida 1.8 millones de personas y que se produjeron 2.6 millones de infecciones nuevas por VIH, incluidos 370 000 niños, de los cuales muchos eran productos infectados en fase perinatal. La Organización Mundial de la Salud estimó que han fallecido más de 36 millones de personas a nivel mundial por sida y que quedaron en la orfandad

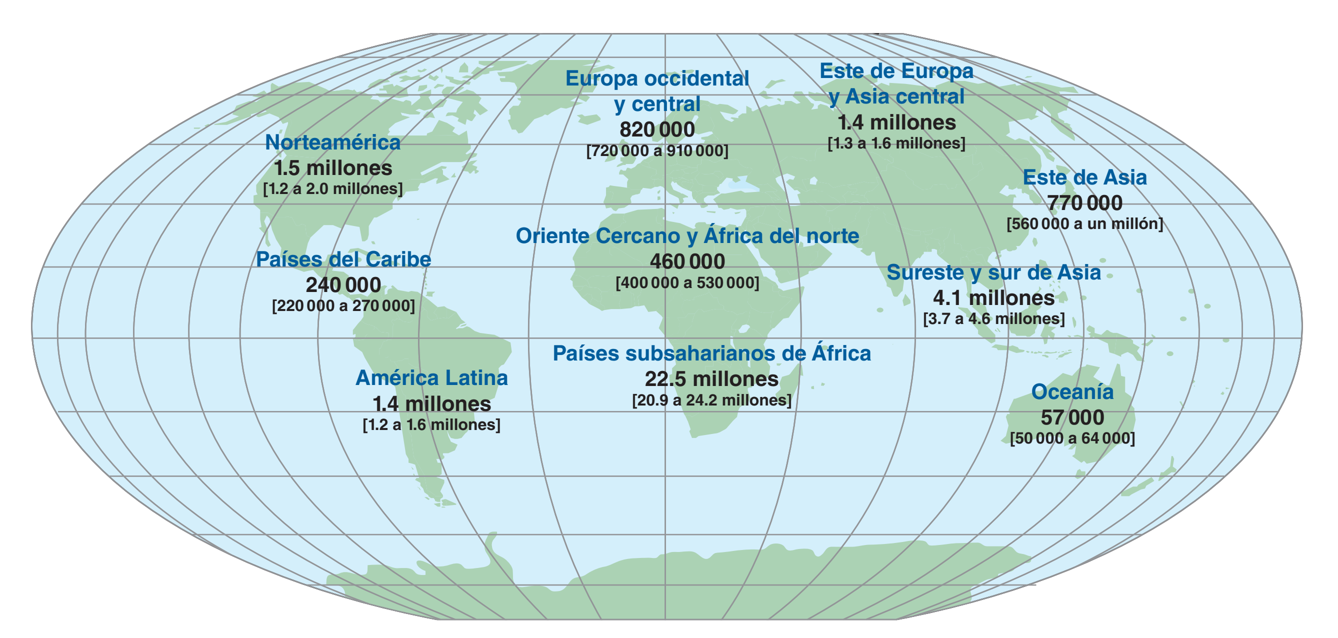


FIGURA 44-7 Los adultos y niños que, según cálculos, vivían con el VIH/sida en continentes o regiones en diciembre de 2009, hacían un total de 33.3 millones de personas. Se calculó que, en promedio, 1.8 millones de personas a nivel mundial fallecieron de VIH-sida en 2009. (Datos obtenidos con autorización del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre VIH/sida.)

más de 16.6 millones de niños, y de ellos 14 millones vivían en países subsaharianos de África.

La epidemia varía con la región geográfica. Con base en los datos de 2009, el mayor número de infecciones por VIH se registró en los países subsaharianos de África (figura 44-7). En algunas ciudades africanas con elevada prevalencia, se sabe que uno de cada tres adultos estaba infectado por el virus. En esa zona la epidemia al parecer se ha estabilizado, si bien a menudo en grandes niveles. En la actualidad se realizan grandes esfuerzos para distribuir los tratamientos antirretrovirales en países que se han visto mayormente afectados. Las infecciones se han propagado también en el sur y el sureste asiático (en particular en India, China y Rusia). El sida tiende a afectar adultos jóvenes y trabajadores en su periodo de mayor productividad, razón por la cual la epidemia ha tenido efectos devastadores en las estructuras sociales y económicas de algunos países.

A nivel mundial los virus del grupo M son los que han ocasionado muchas de las infecciones por el VIH-1, pero varían las distribuciones de subtipos. El subtipo C predomina en el sur de África; el subtipo A en África occidental y el subtipo B, aparece predominantemente en Estados Unidos, Europa y Australia. El VIH-2 ha permanecido localizado más bien en África occidental.

La Organización Mundial de la Salud estima que de todas las nuevas infecciones por el VIH cada año, 90% aparecen en países en desarrollo. En estos últimos, el sida es una enfermedad transmitida abrumadoramente por contactos heterosexuales y se observa una cifra igual de ataque entre varones y mujeres.

Se ha planteado la hipótesis de que la diseminación rápida a nivel global del VIH en las últimas décadas del siglo XX fue estimulada por la migración masiva de pobladores de zonas rurales, a centros urbanos, junto con el desplazamiento internacional de personas infectadas como consecuencia de revueltas civiles, turismo y viajes de negocios.

B. Estados Unidos

El panorama de la epidemia de sida ha cambiado en Estados Unidos desde 1981. Originalmente la mayor parte de los casos se observaba en varones homosexuales. Después se identificó que el trastorno surgía en usuarios de drogas inyectables. Para el 2005 algunas comunidades de minorías raciales y étnicas fueron desproporcionadamente atacadas, en las cuales se concentraba el 66% de los casos de VIH/sida notificados. La frecuencia de la transmisión por contactos heterosexuales fue en aumento siendo ésta la forma de transmisión más común y aproximadamente 25% de los casos recién diagnosticados correspondieron a mujeres. Muchos de los casos de sida producto del contacto heterosexual se atribuyeron a las relaciones sexuales con un usuario de drogas inyectables o un compañero infectado por el virus de inmunodeficiencia humana. A pesar de las recomendaciones publicadas por los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) en el año 2006 para que el tamizaje en busca del VIH sea parte de la atención médica rutinaria para personas de 13 a 64 años, se estimó que en 2011, 20% de personas que vivían con VIH no se habían percatado de su infección.

A finales de 2007 se calculó que había más de 1.5 millones de casos de VIH/sida (y de ellos más de 500 000 habían ya fallecido). Más de un millón de personas viven con VIH/sida en Estados Unidos y se ha calculado que cada año aparecen 50 000 casos nuevos. La tasa de defunción disminuyó por primera vez en 1996 y ello reflejó el empleo de combinaciones de antirretrovirales y la prevención de infecciones secundarias oportunistas (figura 44-8).

En niños aumentó la frecuencia de sida conforme lo hizo el número de mujeres infectadas por el virus. Se calculó que en 1991 en Estados Unidos 1 650 recién nacidos se contagiaron de VIH. El número de infecciones nuevas disminuyó impresionantemente al contar en 1994 con la terapia a base de zidovudina en fase prenatal durante el parto y etapa neonatal (véase

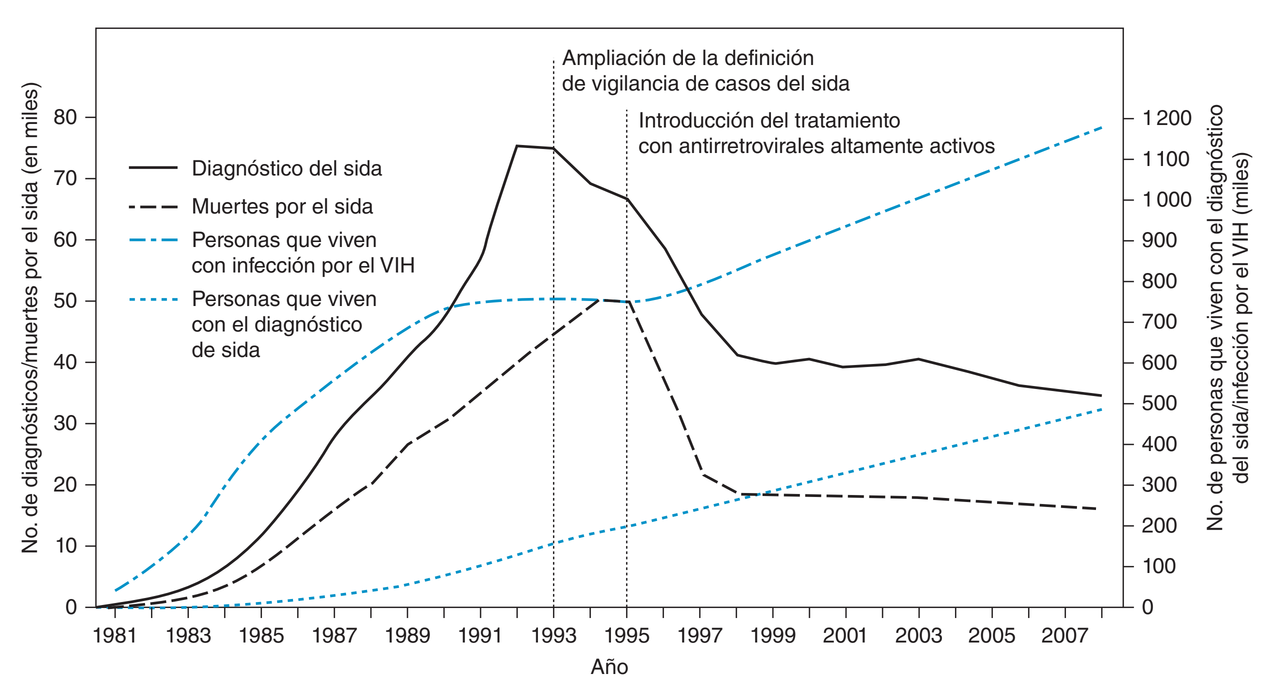


FIGURA 44-8 Cifras estimadas de personas que viven con el VIH/sida y muertes por sida en Estados Unidos de 1981 a 2008. (*Fuente*: HIV-surveillance—United States, 1981-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:689.)

adelante). A partir de las cifras de transmisión de 25 a 30% sin intervención terapéutica, las farmacoterapias han disminuido los índices de transmisión en Estados Unidos a cifras menores de 2%. No ha cesado la transmisión madre-hijo, porque en la madre no se diagnostica la infección por el virus y no se emprende tratamiento médico.

Los buenos resultados para disminuir la transmisión perinatal del VIH en Estados Unidos han promovido esfuerzos por reducir esta vía de infección en otros países. Programas como el *President's Emergency Plan For AIDS Relief* (PEPFAR) han logrado mejoría en el acceso a los fármacos y reducciones en la tasa de transmisión materno-fetal en varios países, aunque aún falta mucho por hacer. En 2013, más de 11 millones de personas con VIH, en países de ingresos bajos y medios, cuentan con acceso a tratamientos antirretrovirales.

C. Vías de transmisión

En dos líquidos corporales, que son la sangre y el semen, aparece un número elevado del VIH; el VIH se transmite durante el contacto sexual (incluido el sexo genital-oral), por exposición parenteral a sangre o hemoderivados contaminados, y de la madre al producto en el periodo perinatal. La presencia de otras enfermedades de transmisión sexual, sífilis, gonorrea o herpes simple de tipo 2 incrementa el riesgo de transmisión sexual del VIH incluso 100 veces, porque la inflamación y las úlceras facilitan la transferencia del virus a través de la barrera que oponen las mucosas. Los individuos que portan el virus y están asintomáticos lo pueden transmitir. Desde la primera descripción del sida se identificó a la promiscuidad homosexual como un factor agravante del riesgo de adquirir la enfermedad. Dicho riesgo se agrava en proporción al número de contactos sexuales con diferentes compañeros.

La transfusión de sangre o hemoderivados infectados constituye un mecanismo eficaz de transmisión del virus. Por ejemplo, más de 90% de hemofílicos (ver la lista) que recibieron concentrados contaminados del factor de coagulación en Estados Unidos (antes de que se detectara el VIH) terminaron por generar anticuerpos contra el virus. Los usuarios de drogas ilícitas inyectables suelen infectarse al compartir agujas contaminadas; dicho mecanismo también explica una fracción importante de los nuevos casos del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Se necesitan métodos de prueba cuidadosos para que los abastos de sangre sean seguros. La Organización Mundial de la Salud ha señalado que la donación voluntaria y no remunerada de sangre es mucho más segura que las donaciones pagadas. Las pruebas serológicas y de detección de RNA (NAT) aplicadas a los donadores de sangre ha reducido el riesgo de transmisión del VIH a través de transfusiones a menos de un caso en un millón.

Las cifras de transmisión de la madre a su hijo varían de 13 a 40% en mujeres no tratadas. Los pequeños se infectan en su vida intrauterina, durante el parto, o más frecuentemente por el consumo de leche materna. Si se descartara esta última práctica, se sabe que, en promedio, 30% de las infecciones se producen en el útero y 70% durante el parto. Los datos indican que 33 a 50% de las infecciones perinatales por el VIH en África provienen del consumo de leche materna. La transmisión durante el amamantamiento aparece muy tempranamente (a los seis meses) y un factor importante de riesgo para que ocurra es que la madre tenga una carga viral elevada en su sangre.

Los profesionales de la salud han sido infectados por el VIH después de un pinchazo de aguja, con sangre contaminada. El número de infecciones es relativamente escaso en comparación con el de pinchazos de aguja que ocurrieron en el que participó sangre contaminada (riesgo calculado de transmisión < 0.3%). El riesgo de transmisión es aún menor después de que

hay exposición de una membrana mucosa a sangre infectada (en promedio 0.09%). Lo anterior es muy diferente de lo que ocurre con el peligro de infección por el virus de hepatitis C después de un pinchazo de aguja, que es de 1.8%, y la infección por el virus de la hepatitis B, que es de 6 a 30 por ciento.

Los mecanismos de transmisión (por la sangre, contacto sexual y nacimiento) ya descritos explican casi todos los casos de infecciones por el virus de inmunodeficiencia humana. Ha habido considerable preocupación de que pudieran surgir en raras circunstancias otros tipos de transmisión como sería el contacto "casual" con personas o insectos vectores infectados por VIH, pero en tales situaciones casuales no hay prueba de que se produzca la transmisión del virus.

Prevención, tratamiento y control

A. Antivirales

En Estados Unidos se ha aprobado un número cada vez mayor de antivirales para tratar infecciones por el VIH (cuadro 44-4 y capítulo 30); entre las clases de tales medicamentos están inhibidores nucleósidos y no nucleósidos de la enzima viral transcriptasa inversa, e inhibidores de la enzima proteasa del virus. Los inhibidores recién mencionados son antivirales potentes, porque la actividad de proteasa es absolutamente esencial para que surja un virus infectante y la enzima del virus es diferente de las proteasas de células humanas. Nuevas clases de fármacos incluyen inhibidores de la fusión, que bloquean la penetración del virus en las células; inhibidores de la penetración, que bloquean la unión del correceptor CCR5 por parte del virus, e inhibidores de la integrasa, que interfieren con la integración cromosómica que es indispensable para la replicación del virus de inmunodeficiencia humana.

CUADRO 44-4 Fármacos para el VIH

Mecanismo de acción	Fármaco
Inhibidores nucleósidos/nucleótidos de la transcriptasa inversa	Abacavir Didanosina Emtricitabina Lamivudina Stavudina Tenofovir Zidovudina
Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa	Delaviridina Efavirenz Etravirina Nevirapina Rilpivirina
Inhibidores de proteasa	Atazanavir Darunavir Fosamprenavir Indinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir Tipranavir
Inhibidores de fusión	Enfurtivida
Inhibidores de entrada	Maraviroc
Inhibidores de integrasa	Dolutegravir Raltegravir

En 1996 se introdujeron las combinaciones de antirretrovirales, denominadas tratamiento antirretroviral altamente activo (HAART; *highly active antiretroviral therapy*). A menudo ésta suprime la replicación viral a un número por debajo de los límites de detección en el plasma; disminuye el número de virus en los tejidos linfoides; permite la recuperación de las respuestas inmunitarias contra patógenos oportunistas y prolonga la vida del paciente. A pesar de ello, la terapia en cuestión no cura las infecciones por el VIH-1. El virus persiste en reservorios o depósitos de células infectadas en forma latente que viven largo tiempo, como serían los linfocitos T CD4 de memoria. Al interrumpir el HAART o si la terapia es ineficaz, hay un rebote por reactivación en la producción del virus.

El uso de un solo antirretroviral suele hacer que surjan rápidamente mutantes farmacorresistentes del VIH, pero lo único que hacen las combinaciones terapéuticas orientadas a múltiples fases de la replicación del virus es retrasar la aparición de los mutantes. Sin embargo, dichas formas que surgen y que son resistentes a un inhibidor de proteasa también lo son a otros fármacos similares.

La transmisión de variantes farmacorresistentes puede menoscabar futuras opciones terapéuticas. En el 2004 y 2005, los sujetos que no habían recibido tratamiento y que tenían infecciones por el VIH recién diagnosticadas, transportaron virus con mutaciones farmacorresistentes en 8 y 10% de los casos en Estados Unidos y en Europa, respectivamente. De los lactantes infectados en fase perinatal en Estados Unidos en 2002, 19% tuvieron virus que mostraban mutaciones farmacorresistentes múltiples.

Han sido satisfactorios los resultados con las combinaciones de fármacos y han logrado que la infección por VIH se torne crónica y tratable. Con ellas es posible suprimir en forma duradera la replicación viral, y obtener la restauración de la función inmunitaria, pero el tratamiento debe continuar durante toda la vida y surge a veces resistencia a fármacos. Además, los regímenes actuales son caros, no todos los pacientes los toleran, y pueden surgir efectos adversos (como lipodistrofia). A nivel mundial la mayor parte de los sujetos infectados no tiene en lo absoluto acceso a fármacos contra el virus de inmunodeficiencia humana.

Los datos de estudios publicados en 2010 y 2011 indicaron que los antirretrovirales, incluido el tenofovir, podían ser muy eficaces para evitar la transmisión del VIH, e infecciones nuevas. Sobre tal base, la profilaxia previa a la exposición con fármacos usados en el tratamiento, aporta una nueva estrategia en los intentos de prevención del VIH.

La zidovudina (azidotimidina; AZT) disminuye significativamente la transmisión del VIH de la madre a su hijo. El régimen de administración de dicho fármaco a la madre durante el embarazo y durante el parto y al hijo después de nacer, disminuyó el riesgo de transmisión perinatal 65 a 75% (de 25%, en promedio, a menos de 2%). Dicho tratamiento disminuye la transmisión vertical y la carga viral de la gestante en todos los niveles. Se ha demostrado que un ciclo más breve de AZT aplicado a madres infectadas o un régimen simple de nevirapina disminuyen 50% la transmisión y son inocuos para utilizar en naciones en fase de desarrollo. Sin embargo, la elevada cifra de transmisión del virus por el amamantamiento puede anular los beneficios de la farmacoterapia perinatal de la madre.

B. Vacunas contra el VIH

Una vacuna segura y eficaz constituiría el mejor medio para controlar la epidemia mundial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Las vacunas hechas de virus típicamente son preventivas, es decir, se aplican a personas no infectadas para evitar la infección o la enfermedad. Sin embargo, todas las vacunas del VIH que podrían ser útiles estudiadas hasta 2011 resultaron ineficaces o con muy escasa eficacia para evitar la infección.

La obtención de la vacuna es difícil, porque el VIH muestra un elevado índice de mutación, no se expresa en todas las células infectadas y no es eliminado del todo por la respuesta inmunitaria del hospedador después de la infección primaria. Los aislados del VIH presentan variación extraordinaria, en particular en sus antígenos de la cubierta (variabilidad que pudiera estimular la aparición de mutantes resistentes a la neutralización). Se desconocen los hechos correlacionados propios de la inmunidad protectora, por lo que igualmente se desconocen las respuestas inmunitarias de tipo celular, humoral o ambas que debe desencadenar la vacuna.

Ante los problemas de la inocuidad, se considera con temor el uso de vacunas basadas en virus atenuados o inactivados, o de virus de simios. Otras posibles candidatas serían las proteínas virales obtenidas por bioingeniería (en particular las glucoproteínas de la cubierta), administradas con coadyuvantes o con vectores virales heterólogos. Están en estudio innumerables métodos nuevos de vacunación. Se han diseñado estrategias de genoterapia, orientadas a lograr “inmunización intracelular”, es decir, modificar genéticamente células destinatarias en forma tal que sean resistentes al virus de inmunodeficiencia humana.

Un gran obstáculo para la obtención de la vacuna es no contar con un modelo animal apropiado, del virus de inmunodeficiencia humana. Los chimpancés son los únicos susceptibles al virus. Además de que son pocos los animales para estudios, los chimpancés terminan por mostrar solamente viremia y anticuerpos, pero no inmunodeficiencia. En el modelo del sida de simios, en macacos con el virus de inmunodeficiencia de simios, la enfermedad se desarrolla, y es útil para los estudios de obtención de vacunas.

C. Microbicidas tópicos

En muchos países del mundo las mujeres representan al menos, la mitad de las personas que viven con el VIH/sida y en la mayor parte de los casos surge la infección por contacto heterosexual. Están en marcha intentos para sintetizar microbicidas tópicos seguros y eficaces para evitar la transmisión sexual del virus. En 2010 se reportaron resultados promisorios; un gel vaginal en estudio que contenía tenofovir como antirretroviral disminuyó 39% la transmisión del VIH.

D. Medidas de control

Al no lograr el control por medio de fármacos o vacunas, la única forma de evitar la propagación epidémica del VIH es seguir un modo de vida que lleve al mínimo o elimine los factores de alto riesgo expuestos en párrafos anteriores. Hasta la fecha no se ha corroborado que surja la enfermedad por exposición común, como sería al estornudar, toser, compartir comidas u otros contactos comunes.

El virus de inmunodeficiencia humana se puede transmitir en todo tipo de sangre, razón por la cual los donantes deben ser sometidos a pruebas en busca de anticuerpos. Los métodos hechos adecuadamente para identificar anticuerpos y RNA viral (NAT) al parecer detectan a casi todos los portadores del VIH-1 y VIH-2. En situaciones en que se practica la detección extensa de donantes de sangre para identificar exposición al virus, y el rechazo de sangre contaminada, ha desaparecido prácticamente la transmisión por transfusión de sangre.

Las recomendaciones en salud pública respecto a personas que, según señalamientos, tienen infección por el VIH incluyen:

1. Prácticamente todas las personas permanecerán infectadas toda su vida y terminarán por mostrar la enfermedad si no reciben tratamiento.
2. A pesar de que las personas infectadas pueden estar asintomáticas, éstas pueden transmitir el virus a otras. En estos casos se recomienda la valoración médica y la vigilancia bien planeadas.
3. Las personas infectadas o con alto riesgo de infección deben abstenerse de donar sangre, plasma, órganos, otros tejidos o semen.
4. Existe el peligro de infectar a terceros, en el coito vaginal o anal, por contacto oral-genital o al compartir agujas. El empleo constante y apropiado de condones disminuye la transmisión del virus, aunque la protección no es absoluta.
5. No deben compartirse cepillos de dientes, maquinillas de rasurar y otros objetos que pudieran estar contaminados con sangre.
6. Las mujeres que tienen compañeros sexuales seropositivos por sí mismas están expuestas a un mayor riesgo de contagiarse por el VIH. En caso de embarazarse, si ellas no se someten a tratamiento, el producto está expuesto a un gran riesgo de infectarse por el VIH.
7. Después de accidentes que ocasionan pérdida sanguínea, hay que limpiar las superficies contaminadas con blanqueadores caseros diluidos en ese momento, a razón de una parte por 10 de agua.
8. Es importante esterilizar por vapor en autoclaves, dispositivos que hayan perforado la piel como agujas hipodérmicas y de acupuntura antes de utilizarlas de nuevo, o será mejor desecharlas de manera segura. Los instrumentos para uso odontológico deben esterilizarse con calor en los lapsos que median entre la atención de uno y otro enfermo. De ser posible se utilizarán agujas y equipo desechables.
9. Al solicitar atención médica u odontológica por enfermedades recurrentes, las personas infectadas deben señalar a los encargados de su atención, que son seropositivas, para emprender la evaluación apropiada y tomar precauciones para evitar el contagio a los demás.
10. A personas que pudieran haber quedado infectadas como consecuencia de su contacto con individuos seropositivos (como compañeros sexuales, personas con quienes se han compartido agujas, recién nacidos y lactantes hijos de mujeres seropositivas) se planteará la posibilidad de practicar pruebas para detectar anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia humana.

5. Muchas personas con positividad en la prueba para identificar al VIH no necesitan pensar en un cambio de empleo o actividad, salvo que su labor entrañe la posibilidad notable de exponer a terceros a su sangre u otros líquidos corporales. No existen pruebas que la manipulación de alimentos permite la transmisión del virus de inmunodeficiencia humana.
6. Las personas seropositivas que participen en tareas de asistencia clínica en que se practican métodos penetrantes, o que tienen lesiones cutáneas, deben seguir precauciones similares a las recomendadas para los portadores del virus de hepatitis B, para proteger a los pacientes del riesgo de infección.
7. Se permitirá a los niños con positividad de sus pruebas acudir a la escuela, porque el contacto común interpersonal entre escolares no conlleva riesgo.

E. Enseñanza orientada a la salud

Al no contar con una vacuna o un tratamiento, la prevención de casos del sida depende de los buenos resultados de proyectos educativos, que comprendan cambios conductuales. Se resumen a continuación los mensajes de enseñanza de salud para el público en general: 1) Es importante usar un condón como protección en todas las relaciones sexuales (fuera de relaciones monógamas en que no se detecten anticuerpos contra el VIH); 2) no se compartirán agujas o jeringas no estériles; 3) toda mujer que pudiera estar expuesta debe solicitar la práctica de identificación de anticuerpos contra el VIH antes de embarazarse y si la prueba es positiva, deberá considerar los riesgos al embarazarse y 4) si se cuenta con otras posibilidades seguras de alimentación, las mujeres infectadas por el VIH no amamantarán a su hijo para aminorar la transmisión del virus a su prole.

RESUMEN DEL CAPÍTULO

- El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, enfermedad que fue descrita originalmente en 1981.
- En la actualidad ha surgido una epidemia a nivel mundial de infección por VIH/sida; más de 35 millones de personas viven con VIH/sida.
- La mayoría de las infecciones por el VIH aparecen en países en desarrollo, y la mayor parte de ellas no han sido diagnosticadas ni tratadas. El número mayor de infecciones por el VIH se localiza en países subsaharianos de África y le siguen en frecuencia el sur y el sureste asiáticos.
- El VIH es un lentivirus, un tipo de retrovirus.
- El VIH-1 y VIH-2 provinieron de lentivirus de primates de distribución común en África.
- El VIH es transmitido por contacto sexual, exposición parenteral a sangre o hemoderivados contaminados o de la madre al hijo durante el periodo perinatal.
- Una vez infectadas las personas tendrán permanentemente la infección.
- El VIH utiliza a la molécula CD4 como receptor, y tal molécula es expresada en macrófagos y linfocitos T. Los correceptores del VIH son los receptores de quimiocinas CCR5 (cepas de VIH-1 que muestran tropismo por macrófagos) y CXCR4 (para cepas de virus que muestran tropismo por linfocitos).
- La evolución típica de una infección por el VIH sin tratamiento dura, en promedio, una década; el sujeto fallece por lo regular en término de dos años de haber comenzado la enfermedad clínicamente manifiesta (por infecciones oportunistas o neoplasias).
- Sin tratamiento la enfermedad por el VIH en niños evoluciona rápidamente.
- En el periodo de latencia clínica se advierte una acelerada réplica del VIH y una disminución en el número de linfocitos T CD4.
- En un número pequeño de linfocitos T de memoria en reposo, los cuales tienen vida larga en personas infectadas hay infecciones latentes por el VIH, con mínima o nula expresión de genes virales. En caso de activar tales células se produce la réplica de los virus.
- Las personas infectadas por el VIH terminan por presentar inmunidad de tipo humoral y celular contra antígenos del VIH, pero las respuestas mencionadas no bastan para eliminar la infección.
- Las causas principales de morbilidad y mortalidad en personas afectadas por el VIH son infecciones oportunistas (raras en sujetos con un sistema inmunitario en buen estado) y síntomas neurológicos que por lo común aparecen si el número de linfocitos T CD4 disminuye a menos de 200 células/μl.
- Las combinaciones de antirretrovirales pueden hacer que la infección por el VIH se transforme en un trastorno crónico. El tratamiento debe continuar toda la vida, es caro, puede generar reacciones adversas y no todos los pacientes lo toleran. Puede surgir resistencia de los virus a los fármacos.
- El número de partículas del VIH en la sangre (carga viral) brinda un valor pronóstico en el diagnóstico, y es de importancia decisiva para vigilar la eficacia de la farmacoterapia.
- Los cánceres que definen sida y que aparecen en sujetos infectados y no tratados incluyen sarcoma de Kaposi, cáncer cervicouterino y linfoma no Hodgkin. Los individuos que viven largo tiempo y que reciben farmacoterapia eficaz están expuestos al peligro de presentar algunos cánceres que no son definitorios de sida, incluidos los de cabeza y cuello, hígado y de la cavidad oral.
- Los fármacos anti-VIH se utilizan para evitar la infección.
- En la actualidad no se cuenta todavía con una vacuna contra el VIH.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Se clasifica al VIH-1 como miembro del género *Lentivirus* de la familia Retroviridae. Los lentivirus:
   (A) Contienen un genoma de ADN
   (B) Causan tumores en ratones

(C) Infectan células del sistema inmunitario
(D) Poseen secuencias similares endógenas en todas las células normales
(E) Originan enfermedad neurológica de rápida evolución

2. El VIH-1 codifica a una glucoproteína de la cubierta la gp120. Esta proteína mencionada:

(A) Causa fusión con la membrana
(B) Se liga al correceptor viral en la superficie celular
(C) Es altamente conservada entre diferentes virus
(D) No desencadena la aparición de anticuerpos neutralizantes
(E) Induce la producción de quimiocinas

3. La epidemia mundial del VIH/sida aún no cesa y sigue en aumento. El área geográfica que incluye al mayor número de personas infectadas por dicho virus después de los países subsaharianos de África es:

(A) Centroamérica, Sudamérica y países del Caribe
(B) Este de Asia, incluida China
(C) Estados Unidos
(D) Sur y sureste asiático
(E) Este de Europa y Asia central

4. La evolución típica de una infección por el VIH, sin tratamiento, abarca 10 años o más. Por lo regular se advierte un periodo largo (latencia clínica) entre la fecha de la infección primaria y la aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En ese periodo de latencia clínica:

(A) No es detectable el VIH en el plasma
(B) No cambia el número de linfocitos T CD4
(C) No se transmite el virus a otras personas
(D) Aparece el virus en órganos linfoides
(E) No surgen anticuerpos neutralizantes

5. En sujetos infectados con el VIH-1 a veces hay infecciones virales coexistentes (coinfecciones) y pueden contribuir a la morbilidad y la mortalidad. La coinfección más frecuente en sujetos VIH-1 positivos en Estados Unidos comprende:

(A) Virus de la hepatitis C
(B) Virus de la hepatitis D
(C) El VIH de tipo 2
(D) Virus linfotrópico T de humanos (HTLB)
(E) Herpes virus del sarcoma de Kaposi

6. ¿Cuáles son los síntomas más comunes de una infección aguda por VIH?

(A) Prurito e inflamación de la garganta
(B) Fiebre y malestar general
(C) Diarrea
(D) Ictericia y hepatitis
(E) Cambios neuropsiquiátricos y conductuales

7. Una enfermera de 36 años de edad se pinchó con una aguja que tenía sangre de un paciente VIH-positivo. Seis meses después había positividad del suero, en una prueba EIA, pero los resultados fueron equívocos cuando se repitió la prueba y el resultado fue negativo en la inmunotransferencia. Ella:

(A) Probablemente esté infectada de VIH
(B) Está en el periodo de ventana entre la infección aguda por VIH y la seroconversión.
(C) Probablemente no esté infectada de VIH
(D) Puede estar infectada por una cepa de VIH resistente a fármacos
(E) Puede no evolucionar a largo plazo

8. Se hizo el diagnóstico de infección por *Pneumocystis jiroveci* a un varón de 41 años infectado de VIH que había rechazado la administración de antirretrovirales. El paciente en cuestión:

(A) Muestra probablemente un recuento de linfocitos T CD4 menor de 200 células/microlitro
(B) Muestra un elevado riesgo de presentar cáncer de pulmón
(C) No es más ya un candidato para recibir combinación de antirretrovirales altamente activos (HAART)
(D) Es probable que su viremia esté en fase de disminución
(E) Es poco probable que presente demencia en dicha fase

9. Un varón de 48 años VIH-positivo que tenía 40 linfocitos CD4 señaló pérdida de memoria a su médico. Cuatro meses más tarde mostró parálisis y falleció. En la necropsia se identificó desmielinización de muchas neuronas en el cerebro y en la microscopia electrónica hubo cúmulos de partículas virales sin cubierta, en las neuronas. La causa más probable de su enfermedad es:

(A) Adenovirus del tipo 12
(B) Virus Coxsackie B2
(C) Parvovirus B19
(D) Virus de Epstein-Barr
(E) Virus JC

10. La terapia por combinación de antirretrovirales altamente activos contra la infección por el VIH suele incluir un inhibidor de proteasa como el saquinavir. El inhibidor mencionado:

(A) Es eficaz contra el VIH-1, pero no contra VIH-2
(B) Rara vez origina mutantes resistentes (del VIH)
(C) Inhibe una fase tardía en la replicación del virus
(D) Degrada el receptor CD4 en la superficie de las células
(E) Interfiere con la interacción del virus con un correceptor

11. En una persona con infección con el VIH, entre los posibles líquidos infectantes están todos los siguientes, excepto:

(A) Sangre
(B) Saliva visiblemente contaminada con sangre
(C) Orina no contaminada visiblemente con sangre
(D) Secreciones de genitales
(E) Líquido amniótico

12. De la población que rebasó el millón de personas que, según cálculos, vivían con VIH en Estados Unidos en el 2011, ¿cuántos se piensa que desconocían que tenían la infección?

(A) 5%, aproximadamente
(B) 10%, aproximadamente
(C) 20%, aproximadamente
(D) 25%, aproximadamente
(E) 30%, aproximadamente
(F) 50%, aproximadamente

13. Las siguientes afirmaciones respecto al VIH son correctas, excepto:

(A) Los métodos de detección sistemática en busca de anticuerpos son útiles para evitar la transmisión del VIH por medio de transfusión de sangre
(B) Las infecciones oportunistas que surgen en casos del sida son más bien consecuencia de la desaparición de la inmunidad de tipo celular
(C) La zidovudina (azidotimidina AZT) inhibe a la DNA polimerasa dependiente de RNA
(D) La presencia de anticuerpos circulantes que neutralizan al VIH es prueba de que una persona está protegida contra la enfermedad inducida por dicho virus

14. El tratamiento antirretroviral altamente activo no alcanza su nivel ideal porque:

(A) No elimina la infección latente por el VIH
(B) Su costo es excesivo para 90% de quienes tienen el sida

(C) A menudo tienen efectos secundarios adversos
(D) Algunas cepas del VIH son resistentes a ellos
(E) Todas las afirmaciones anteriores

15. Todas las afirmaciones siguientes respecto al VIH son correctas, excepto que:
    (A) La proteína CD4 en la superficie de las células T constituye uno de los receptores del virus
    (B) Se advierte apreciable diversidad antigénica en la glucoproteína de la cubierta del virus
    (C) Uno de los genes virales codifica una proteína que aumenta la actividad del promotor de la transcripción viral
    (D) Un problema importante para la búsqueda de anticuerpos contra el virus en algunas técnicas es la reactividad cruzada que muestra con el virus linfotrópico T humano de tipo 1 (HTLD-1)

Respuestas

1. C	5. A	9. E	13. D
2. B	6. B	10. C	14. E
3. D	7. C	11. C	15. D
4. D	8. A	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Aberg JA, Kaplan JE, Libman H, *et al.*: Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:651.

Apetrei C, Robertson DL, Marx PA: The history of SIVs and AIDS: Epidemiology, phylogeny, and biology of isolates from naturally SIV infected non-human primates (NHP) in Africa. *Front Biosci* 2004;9:225.

Arens MQ (guest editor): Update on HIV diagnostic testing algorithms. *J Clin Virol* 2011;52(Suppl 1). [Entire issue.]

Desrosiers RC: Nonhuman lentiviruses. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.

Freed EO, Martin MA: HIVs and their replication. En Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5a. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.

Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections among HIV-exposed and HIV-infected children. Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric Infectious Diseases Society, and the American Academy of Pediatrics. *MMWR Recomm Rep* 2009;58(No. RR-11).

Patel K, Hernán MA, Williams PL, *et al.*: Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: A 10-year follow-up study. *Clin Infect Dis* 2008;46:507.

Patrick MK, Johnston JB, Power C: Lentiviral neuropathogenesis: Comparative neuroinvasion, neurotropism, neurovirulence, and host neurosusceptibility. *J Virol* 2002;76:7923.

Paul ME, Schearer WT: Pediatric human immunodeficiency virus infection. En Leung DYM, Sampson HA, Geha RS, Szefler SJ (editors). *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. Mosby, 2003.

Primary HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2010;202(Suppl 2). [Entire issue.]

Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. *MMWR Recomm Rep* 2006;55(RR-14):1.

Special issue: 25 years of HIV. *Trends Microbiol* 2008;16(No. 12). [Entire issue.]

Synergistic pandemics: Confronting the global HIV and tuberculosis epidemics. *Clin Infect Dis* 2010;50(Suppl 3). [Entire issue.]

Twenty-five years of HIV/AIDS—United States, 1981-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(No. 21):585.

Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR Recomm Rep* 2005;54(RR-9):1.

SECCIÓN V MICOLOGÍA

CAPÍTULO 45

Micología médica

La micología es el estudio de los hongos, microorganismos eucarióticos que evolucionaron de manera sucesiva (en tandem) con el reino animal. Sin embargo, a diferencia de estos últimos, la mayoría de los hongos no son móviles y poseen una pared no rígida. A diferencia de las plantas, los hongos no son fotosintéticos**.** En promedio, se han descrito unas 80 000 especies de ellos, pero menos de 400 poseen importancia médica, y menos de 50 especies ocasionan más de 90% de las micosis de seres humanos y otros animales. Por el lado contrario, muchas especies de hongos son beneficiosas para el género humano. Están en la naturaleza y son esenciales para la degradación y el reciclado de materia orgánica. Algunos realmente mejoran la calidad de vida de los seres humanos al contribuir a la producción de alimentos y bebidas, como quesos, pan y cerveza. Otros hongos han aportado metabolitos bioactivos secundarios y útiles en la medicina como los antibióticos (penicilina), y los inmunodepresores (como las ciclosporinas). Los hongos han sido aprovechados por los genetistas y biólogos moleculares como sistemas modelo para investigar diversos procesos eucarióticos que incluyen biología y desarrollo molecular y celular. En forma global, ejercen su máximo impacto económico como fitopatógenos; la industria agrícola resiente grandes pérdidas de cosechas cada año como consecuencia de enfermedades causadas por ellos en el arroz, el maíz y granos de otras plantas.

A semejanza de todos los organismos eucariotes, cada hongo tiene como mínimo un núcleo con una membrana nuclear, retículo endoplásmico, mitocondria y aparato secretor. Casi todos los hongos son aerobios estrictos o facultativos. Son quimiotróficos, secretan enzimas que degradan muy diversos sustratos orgánicos para hacer de ellos nutrientes solubles que se absorben pasivamente o se incorporan en la célula por transporte activo.

El término **micosis** denota infecciones causadas por hongos. Casi todos los hongos patógenos son exógenos y sus hábitat naturales son agua, tierra y restos orgánicos. Las micosis que tienen la mayor incidencia, como la candidosis y las dermatofitosis, son causadas por hongos que son parte de la microbiota normal de las personas y adaptados en grado sumo para sobrevivir en el hospedador humano. Por comodidad, las micosis se han clasificado en superficiales, cutáneas, subcutáneas o sistémicas, que invaden órganos internos (cuadro 45-1). Las micosis sistémicas pueden ser causadas por hongos endémicos que por lo regular son patógenos primarios, geográficamete restringidos, o provenir del ataque de patógenos oportunistas secundarios, de distribución muy amplia. El agrupamiento de las micosis en las categorías mencionadas muestra su puerta corriente de entrada en el sitio inicial de ataque. Sin embargo, surgen enormes traslapes, porque las micosis generalizadas muestran manifestaciones subcutáneas y viceversa. Muchos sujetos que desarrollan infecciones oportunistas tienen graves enfermedades primarias y disminución de sus defensas inmunitarias; sin embargo, las micosis sistémicas primarias también se presentan en tales enfermos y los gérmenes oportunistas también pueden infectar a sujetos inmunocompetentes.

Durante una micosis, la mayoría de los pacientes desarrollan respuestas inmunitarias celulares y humorales importantes contra antígenos micóticos. Gran parte del aumento continuo de las micosis por oportunistas se atribuye a los progresos médicos que de manera significativa han prolongado la sobrevida de pacientes con cáncer, sida y a trasplantes de células madre hematopoyéticas o de órganos sólidos. Como sugieren tales datos clínicos, las respuestas inmunitarias a Th1 y Th17 son mecanismos de defensa críticos del hospedador para protección natural contra micosis potencialmente mortales. Los hongos patógenos no producen toxinas potentes; los rasgos de patogenicidad micótica son comlejos y poligénicos. Además, las infecciones experimentales han demostrado que la virulencia de las poblaciones de una especie patógena varía; los estudios genéticos han identificado muchos genes que participan en la patogenicidad micótica.

La mayor parte de micosis son de tratamiento difícil. Dado que los hongos son eucariotes, comparten numerosos genes homólogos, productos génicos y rutas con sus hospedadores humanos. En consecuencia, se dispone de pocos blancos

apter 45_Carroll_4R.indd 657 15/04/16

GLOSARIO

Gemación: una manera común de reproducción asexual, típica de levaduras. Durante la mitosis, la pared de la célula parental protruye de manera superficial y se agranda hasta formar una yema naciente que contiene el núcleo de la descendencia. Una célula micótica puede producir sólo una o muchas yemas.

Conidios: estructuras reproductivas asexuales (mitosporas) producidas por la transformación de una levadura vegetativa o una hifa, o por una célula conidiógena especializada, que puede ser sencilla o compleja y elaborada. Los conidios pueden formarse en hifas especializadas llamadas **conidióforos**. Los **microconidios** son pequeños y los **macroconidios** son grandes o multicelulares.

Artroconidios (artrosporas): conidios que surgen por la fragmentación de las hifas (figura 45-1).

Blastoconidios (blastosporas): formación de conidios por el fenómeno de gemación (como las levaduras).

Clamidosporas (clamidoconidios): conidios grandes, de pared gruesa y por lo común esféricos, producidos por las hifas terminales o intercalares.

Fialoconidios: conidios producidos por una célula conidiógena en forma "de vasija" llamada **fialida** (como *Aspergillus fumigatus*, figura 45-6).

Hongos dematiáceos: hongos cuyas paredes celulares contienen melanina con un color pardo o negro.

Hongos dimórficos: hongos que poseen dos formas de proliferación, como mohos o levaduras, y que se desarrollan en diversas situaciones de multiplicación (por ejemplo, *Blastomyces dermatitidis* forma hifas *in vitro* y levaduras en los tejidos).

Hifas: filamentos tubulares ramificados (2 a 10 μm de ancho) de los hongos; constituyen la forma de crecimiento de mohos. Muchas de las hifas están separadas por paredes porosas transversales o **tabiques (septos)**, pero las hifas de cigomicetos de manera característica tienen pocos tabiques. Las hifas vegetativas o de substrato fijan la colonia y absorben nutrientes. Las hifas aéreas sobresalen de la colonia y poseen las estructuras reproductivas.

Anamorfo: estado reproductivo mitótico o asexual de un hongo. Los taxones de hongos anamórficos se identifican a partir de sus estructuras reproductivas asexuales (p. ej., mitosporas).

Mohos: colonias de hifas o micelios, o forma de proliferación.

Micelio: masa o conjunto de hifas, o colonia de mohos.

Teleomorfo: estado reproductivo sexual de un hongo, el cual conlleva plasmogamia, cariogamia y meiosis.

Seudohifas: cadenas de yemas (gemantes) alargadas, o blastoconidios; las tabicaciones entre células se constriñen.

Tabique (septo): paredes transversales de las hifas, típicamente perforadas.

Esporangiosporas: estructuras asexuales características del orden Mucorales; son esporas micóticas producidas dentro del **esporangio** cerrado, que se apoya en un **esporangióforo** (figuras 45-2 y 45-3).

Espora: propágulo especializado con una mayor capacidad de supervivencia, como oponer resistencia a situaciones adversas o poseer rasgos estructurales que facilitan la dispersión. Las esporas pueden surgir por reproducción asexual (como los conidios o las esporangiosporas) o sexual (ver adelante).

Esporas sexuales: durante la reproducción sexual células haploides de cepas compatibles se aparean por medio de un proceso de plasmogamia, cariogamia y meiosis.

Ascosporas: en el filo Ascomycota después de la meiosis se forman cuatro a ocho meiosporas dentro de un **asco**.

Basidiosporas: en el filo Basidiomycota, después de la meiosis se forman por lo común cuatro meiosporas en la superficie de una estructura especializada, el **basidio**, en forma de clava.

Cigosporas: en el orden Mucorales, después de la meiosis se forma una gran **cigospora** de pared gruesa.

Levaduras: hongos unicelulares, cuya forma va de esférica a elipsoide (3 a 15 μm), por lo común se reproducen por gemación.

únicos para quimioterapia. Sin embargo, hay interés creciente en la búsqueda de blancos terapéuticos potenciales; nuevos antimicóticos están disponibles.

PROPIEDADES GENERALES, VIRULENCIA Y CLASIFICACIÓN DE HONGOS PATÓGENOS

Los hongos tienen dos formas básicas de crecimiento: como **mohos** y como **levaduras**. El crecimiento en la forma de moho tiene lugar por la producción de túbulos cilíndricos multicelulares que se ramifican, llamados **hifas**, cuyo diámetro varía de 2 a 10 μm. Las hifas se extienden por alargamiento apical debido a la generación de crecimiento de la pared celular en las puntas de las hifas. Recibe el nombre de **micelio** la masa de hifas entremezcladas, acumulada durante la fase de crecimiento activo. Algunas hifas se dividen y forman células gracias a la intervención de estructuras cruzadas llamadas tabiques o **septos**, que de manera típica se forman a intervalos regulares durante la fase de hifas. Sin embargo, miembros del orden Mucorales generan hifas rara vez tabicadas. Las hifas vegetativas o de sustrato penetran en el medio de sostén, fijan la colonia y absorben nutrientes. A diferencia de ellas, las hifas aéreas sobresalen de la superficie del micelio y suelen poseer las estructuras reproductivas del hongo. Cuando se aísla un hongo

CUADRO 45-1 Micosis principales y los hongos causantes

Categoría	Micosis	Hongos causales
Superficiales	Pitiriasis versicolor Tiña negra Piedra blanca Piedra negra	Especies de *Malassezia* *Hortaea werneckii* Especies de *Trichosporon* *Piedraia hortae*
Cutáneas	Dermatofitosis Candidosis de piel, mucosa o uñas	Especies de *Microsporum, Trichophyton* y *Epidermophyton floccosum* *Candida albicans* y otras especies de *Candida*
Subcutáneas	Esporotricosis Cromoblastomicosis Micetoma Feohifomicosis	*Sporothrix schenckii* *Phialophora verrucosa, Fonsecaea pedrosoi,* y otras *Pseudollesceria boydii, Madurella mycetomatis,* y otras *Exophiala, Bipolaris, Exserohilum* y otros mohos dematiáceos
Endémicas (primarias, sistémicas)	Coccidioidomicosis Histoplasmosis Blastomicosis Paracoccidioidomicosis	*Coccidioides posadasii* y *Coccidioides immitis* *Histoplasma capsulatum* *Blastomyces dermatitidis* *Paracoccidioides brasilensis*
Oportunistas	Candidosis sistémica Criptococosis Aspergilosis Hialohifomicosis Faehifomicosis Mucormicosis (cigomicosis) *Pneumocystis* pneumonia Penicilliosis	*Candida albicans* y otras especies de *Candida* *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* *Aspergillus fumigatus* y otras especies de *Aspergillus* Especies de *Fusarium, Paecilomyces, Trichosporon* y otros mohos hialinos *Cladophialophora bantiana;* especies de *Alternaria, Cladosporium, Bipolaris, Exserohilum* y otros mohos dematiáceos Especies de *Rhizopus, Lichtheimia, Cunninghamella,* y otros cigomicetos *Pneumocystis jiroveci* *Penicillium marneffei*

en una muestra clínica, bastan por lo regular su rapidez de crecimiento, aspecto macroscópico y morfología microscópica para identificar su género y especie. Las características fenotípicas más útiles son la ontogenia y la morfología de las esporas de reproducción asexual, o conidios (figuras 45-2 a 45-8).

Las levaduras son células únicas de formas esféricas o elipsoidales, y diámetro que varía de 3 a 15 μm. La mayor parte de las levaduras se reproducen por gemación, que inicia mediante una protrusión lateral o terminal de crecimiento de pared



FIGURA 45-1 Artroconidios formados por la fragmentación de hifas, que se transforman en conidios compactos. 400×.

celular nueva, la cual aumenta durante la mitosis. Uno o más núcleos replicados entran a la yema en nacimiento, que forma un tabique y se separa de la célula parental. Algunas especies producen yemas que fallan al desprenderse y elongarse; esta continuación del proceso de gemación produce cadenas de células de levadura elongadas denominadas **seudohifas**. Las colonias de levaduras por lo general son blandas, opacas, con tamaño de 1 a 3 mm y de color crema. Las colonias y la morfología microscópica de muchas especies de levaduras parecen similares, pero se identifican por pruebas fisiológicas y unas pocas diferencias morfológicas clave. Algunas especies, incluidas varias que causan enfermedad, son dimórficas y capaces de crecer como levadura o moho en función de las condiciones ambientales, como la temperatura o nutrientes disponibles.

Los ciclos vitales de los hongos son extraordinariamente flexibles. Según cada especie, el recuento cromosómico predominante en el núcleo puede ser haploide y diploide. Algunas especies se perpetúan totalmente por crecimiento clonal o reproducción asexual, y salvo mutaciones espontáneas, cada célula será un clon genético. Otras especies son capaces de reproducirse sexualmente, que pudieran o no necesitar parejas genéticamente diferentes para apareamiento y meiosis. La reproducción asexual y la sexual pueden culminar en la producción de **esporas** que prolongan la supervivencia del hongo. Las esporas por lo común son inactivas, se dispersan con facilidad, son más resistentes a situaciones adversas y germinan para formar células vegetativas cuando el entorno para la proliferación es favorable. Las esporas provenientes de la reproducción asexual o sexual reciben el nombre de estados anamórficos o teleomórficos, respectivamente. A semejanza de los elementos vegetativos, las esporas asexuales son descendientes mitóticas (como las mitoesporas). Los hongos de importancia en

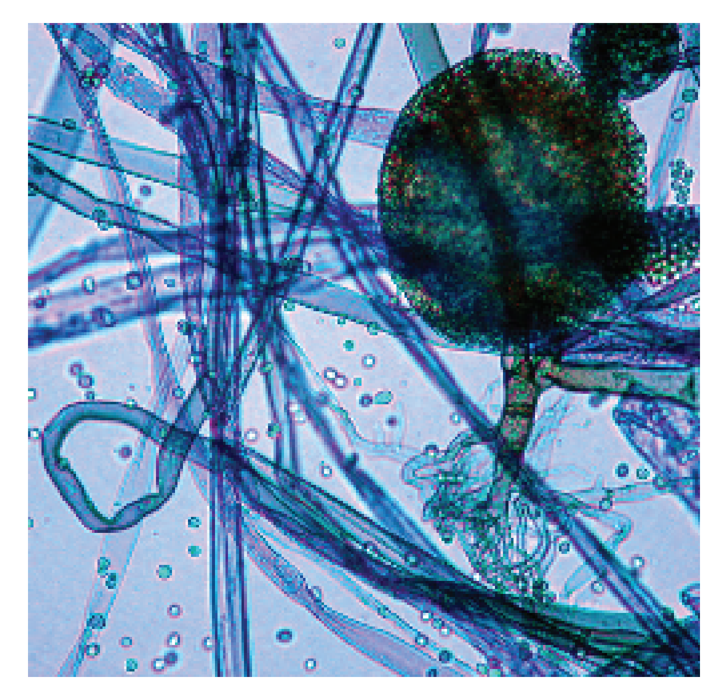


FIGURA 45-2 *Rhizopus*. El esporangio de dicho moho ha liberado sus esporangiosporas, pero permanece unido a éste que forma un apoyo; se advierten rizoides en la base del esporangióforo. 200×.

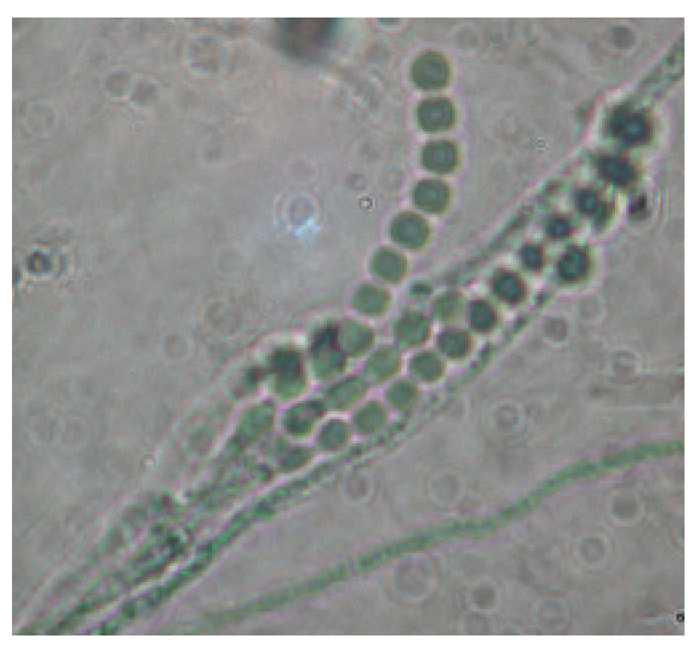


FIGURA 45-4 *Penicillium*. Las cadenas de conidios son generadas por fialidas, sostenidas por un conidióforo ramificado. El conidio basal es nuevo. 400×.



FIGURA 45-3 *Cunninghamella bertholletiae*. Sus esporangiosporas se producen en el interior de los esporangios que están unidos a una vesícula y sostenidos por un esporangióforo. 400×.

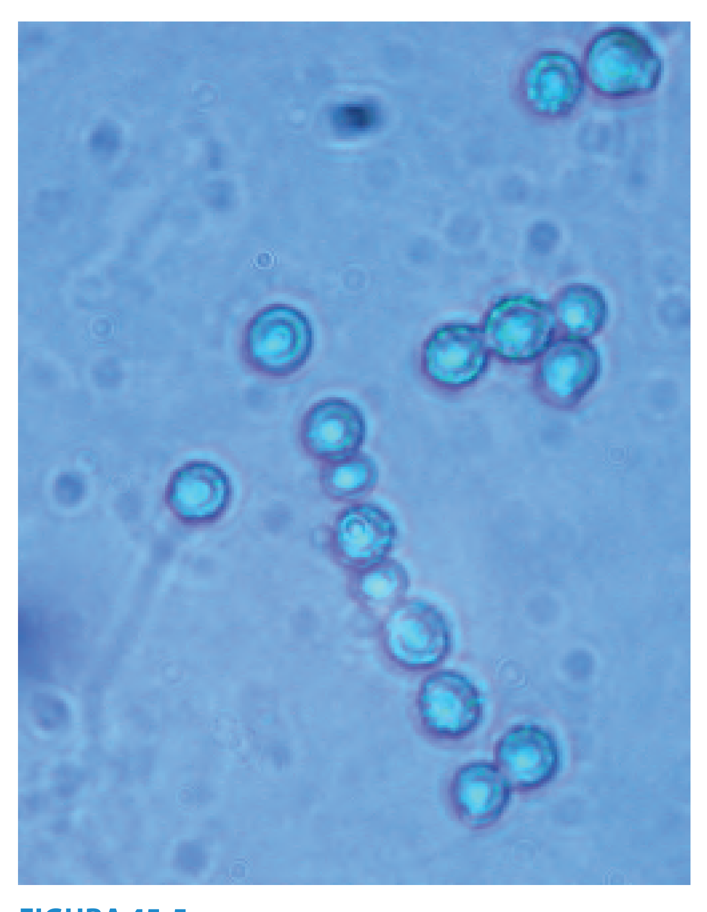


FIGURA 45-5 *Scopulariopsis*. Esta cadena de conidios fue producida por un anélide, otro tipo de célula conidiógena. 400×.

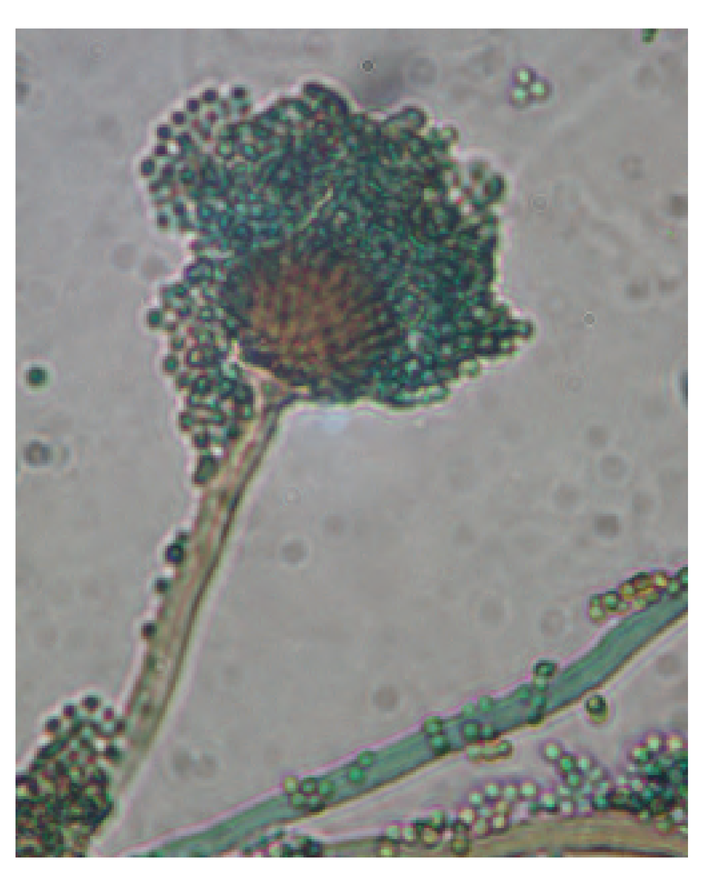


FIGURA 45-6 *Aspergillus fumigatus.* Las fialidas se forman por encima de la vesícula compacta en el extremo de un conidióforo largo. Los conidios basales son los más jóvenes. Los conidios maduros tienen paredes rugosas. 400×.



FIGURA 45-7 *Bipolaris.* Hongo dematiáceo que produce macroconidios de pared gruesa, característicos. 400×.

medicina producen dos tipos decisivos de esporas asexuales, los **conidios** generados por casi todos los hongos patógenos y en el orden Mucorales, las **esporangioesporas** (consúltese más adelante, y el glosario). Entre los signos esclarecedores propios de las esporas están su ontogenia (algunos mohos) producen estructuras conidiógenas complejas) y también su morfología (tamaño, forma, contextura, color y carácter celular o multicelular). En algunos hongos, las células vegetativas pueden transformarse en conidios (por ejemplo artroconidios, clamidosporas). En otros, una célula conidiógena produce los conidios, como un fialido que por sí mismo puede estar adosado a una hifa especializada llamada conidióforo. Las esporangiosporas son consecuencia de la réplica mitótica y la producción de una espora dentro de una estructura sacciforme llamada esporangio, que se apoya en un esporangióforo.

Algunas propiedades de los hongos son fundamentales pero no necesariamente suficientes para causar enfermedad, como la capacidad de proliferar en los hospedadores mamíferos. Muchos factores de virulencia han evolucionado para facultar a los hongos causantes de enfermedad de contrarrestar o engañar las defensas y vulnerar el ambiente del hospedador. Algunos de tales determinantes de virulencia incluyen transformaciones morfológicas, activación genética de procesos metabólicos en respuesta al ambiente del hospedador, la producción de adhesinas de superficie que se unen a las membranas de las células hospedadoras, la secreción de enzimas que atacan los sustratos del hospedador (p. ej., catalasa, aspartilproteinasas, fosfolipasas), componentes de la pared celular que resisten la fagocitosis (p. ej., glucano α–(1,3), melanina, la cápsula de *Cryptococcus*) y la formación de biopelículas. Las descripciones de varias micosis de este capítulo proporcionan ejemplos específicos.

Los hongos poseen una **pared celular** rígida que es el elemento que les confiere su forma y los protege de elementos osmóticos y ambientales agresivos. Las paredes celulares están hechas en gran medida de capas de carbohidratos (cadenas largas de polisacáridos) y también de glucoproteínas y lípidos. Algunos polímeros y carbohidratos se presentan en las paredes celulares de muchos hongos como la quitina (un polímero de *N*-acetilglucosamina no ramificado ligado a β-1,4); glucanos, que son polímeros de glucosa (como α-1,3 glucano, β-1,3 glucano y β-1,6 glucano) y mananos, polímeros de manosa (por ejemplo α-1,6 manosa). Tales componentes se entrecruzan para formar una matriz de pared celular de múltiples capas. Además, otros polisacáridos pueden ser únicos para especies de hongos específicas y, por lo tanto, de utilidad para identificación. Durante la infección, las paredes del hongo ejercen sus propiedades biopatológicas importantes. Los componentes superficiales de la pared celular median el acoplamiento del hongo a las células hospedadoras. Fracciones específicas de la pared se unen a receptores de reconocimiento de forma en las membranas del hospedador, como serían los receptores

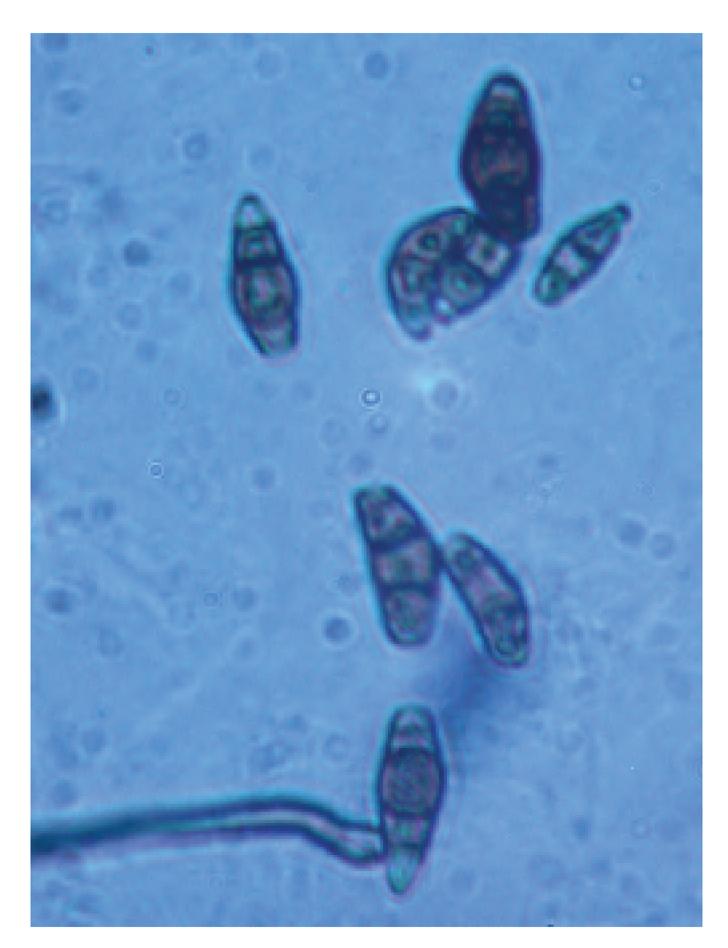


FIGURA 45-8 *Curvularia.* Es un hongo dematiáceo que produce los característicos macroconidios curvos que tienen grandes células centrales, peculiares. 400×.

de tipo Toll (TLR, *Toll-like receptor*), para estimular las respuestas inmunitarias innatas. Los glucanos parietales y otros polisacáridos pueden activar la cascada del complemento y desencadenar una reacción inflamatoria. Muchos de los polisacáridos no son degradados por el hospedador y se les detecta por medio de tinciones histológicas especiales. Las paredes celulares también liberan antígenos inmunodominantes que inducen respuestas inmunitarias de tipo celular y anticuerpos de índole diagnóstica. Además, algunas levaduras y mohos se describen como **dematiáceos** debido a que sus paredes celulares contienen melanina, que provee una coloración parda o negra a la colonia de hongos. Varios estudios han demostrado que la melanina protege a tales hongos contra las defensas del hospedador.

Taxonomía

Los hongos se clasificaron en un principio en filos basados en gran parte sobre sus modos de reproducción sexual e información fenotípica. Tales métodos se han sustituido por la sistemática molecular, que refleja de manera más precisa las relaciones filogenéticas. Hay alguna ambigüedad en torno a la divergencia de hongos y animales, además de sus ancestros vivientes. Los hongos inferiores se asignarons al filo Zygomycota, pero se demostró que éste es polifilético y se ha reemplazado por el filo Glomerulomycota, cuatro subfilos y dos órdenes zoopatógenos, **Mucorales** y Entomophthorales. Sin embargo, los dos filos más grandes, **Ascomycota** y **Basidiomycota**, están bien fundamentados por análisis filogenéticos. Los tres filos incluyen levaduras, mohos y especies dimórficos. El filo Ascomycota (o ascomicetos) incluye más de 60% de los hongos conocidos y alrededor de 85% de los hongos que causan enfermedad en seres humanos. La mayor parte de los otros hongos patógenos son miembros del filo Basidiomycota (basidiomicetos) o el orden Mucorales. Tales taxones con importancia médica se distinguen por sus modos de reproducción. La reproducción sexual tiene lugar de forma típica cuando las cepas compatibles sexualmente de una especie se estimulan por feromonas y sufren plasmogamia, cariogamia (fusión nuclear) y meiosis, que resulta en el intercambio de información genética y en la formación de esporas sexuales haploides.

Para los mohos del orden Mucorales, las hifas vegetativas presentan pocas tabicaciones, el producto de la reproducción sexual entre colonias sexualmente compatibles es una cigospora; la reproducción sexual tiene lugar a través de esporangios, los cuales se transmiten en esporangióforos aéreos (ver glosario). Los ejemplos incluyen especies de *Rhizopus, Lichtheimia* y *Cunninghamella*. Entre los ascomicetos, la reproducción sexual suele requerir la fusión de cepas sexualmente compatibles e involucra la formación de un saco o asco en el cual tiene lugar la cariogamia y la meiosis, de manera que se producen ascosporas haploides. Se reproducen asexualmente con la producción de conidios. Los mohos de ascomicetos tienen hifas tabicadas. La mayor parte de levaduras que causan enfermedad (*Sacharomyces, Candida*) y mohos (*Coccidioides, Blastomyces, Trichophyton*) son ascomicetos. Los basidiomicetos incluyen hongos y especies de *Cryptococcus* que causan enfermedad. La reproducción sexual da como resultado hifas dicarióticas y cuatro basidiosporas descendientes que se apoyan por un basidiomicetoide. En el laboratorio se están desplegando muchos enfoques para identificar colonias clínicas, incluidos rasgos moleculares y fenotípicos (p. ej., marcaje de secuencias de DNA, morfología de estructuras reproductivas, propiedades fisiológicas). Las colonias clínicas casi siempre representan infección por un clon único y se reproducen de forma asexual en el laboratorio. En consecuencia, muchos patógenos se clasificaron en un principio de acuerdo con sus estructuras reproductivas asexuales o estados anamórficos; con el descubrimiento subsecuente de un ciclo sexual, tales taxones adquirieron un nombre teleomórfico. Durante la evolución a patógenos exitosos, algunos hongos en apariencia perdieron la capacidad de reproducirse de manera sexual.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LAS MICOSIS

Gran parte de hongos han evolucionado de tal manera que habitan en varios nichos ambientales donde crecen con rapidez en sustratos orgánicos vecinos y están protegidos contra condiciones adversas. Aunque tales hongos exógenos son incapaces de penetrar las superficies intactas de hospedadores sanos, pueden adquirirse en forma accidental por exposición

traumática a hongos que residen en el suelo, el agua, el aire o las plantas. Una vez que las células micóticas han roto las superficies corporal o mucosa, por ejemplo la piel o los aparatos respiratorio, urinario o gastrointestinal, las defensas innatas del hospedador las repelen. Los hongos más proclives para generar enfermedad deben ser capaces de crecer a 37 °C, adquirir nutrimentos esenciales del hospedador y evadir las reacciones inmunitarias. Los pocos cientos de hongos del ambiente con esos atributos representan sólo un débil porcentaje de todas las especies conocidas. Por desgracia, unos cuantos hongos muy prevalentes con tales ventajas tienen la capacidad de causar infecciones oportunistas invasivas en pacientes con defensas mermadas (p. ej., aspergilosis, criptococosis). Por lo general, la mayor parte de las micosis se producen por hongos que se adaptaron a crecer en la piel, pelo o uñas, y por especies endógenas, que son miembros del micobioma del ser humano. Sin embargo, a pesar de su recurso, con la excepción de dermatofitos, los hongos causantes de enfermedad no son contagiosos y la transmisión entre personas o animales es muy rara. En este capítulo se describe la mayor parte de micosis prevalentes, sin pasar por alto que año tras año se descubren nuevas especies. Existe asimismo una cobertura breve de dos mecanismos diferentes por los cuales los hongos pueden causar enfermedad en personas: ingestión de toxinas micóticas o exposición a componentes de la pared celular micótica emisores de respuestas alérgicas mediadas por IgE.

En general, la mayor parte de métodos definitivos para confirmar el diagnóstico de infección micótica son el cultivo del microorganismo, el examen microscópico, la detección de DNA micótico específico de especie y la serología. Dado que tales métodos tienen disponibilidad, especificidad, sensibilidad, técnicas y tiempo de restablecimiento variables, conviene utilizar estrategias diagnósticas diversas.

A. Muestras

Las muestras clínicas obtenidas por microscopia y cultivo se determinan por los lugares de infección y la afección del paciente. Todas las muestras deben obtenerse con técnica aséptica, en especial con muestras de sitios por lo general estériles, por ejemplo sangre, biopsias de tejido, líquido cefalorraquídeo (LCR) y así de manera sucesiva. Las muestras de lugares corporales no estériles incluyen piel y lesiones subcutáneas, muestras nasofaríngeas o genitales obtenidas con hisopos, líquido de lavado broncoalveolar, orina y heridas. Para minimizar el crecimiento bacteriano, las muestras deben transportarse al laboratorio de diagnóstico antes de 2 h. Siempre que se sospeche infección micótica, el laboratorio debe alertarse debido a que se han desarrollado cepas especiales y medios de cultivo para la detección de hongos que causan enfermedad.

B. Examen microscópico

Una o dos gotas de una muestra acuosa o serosa, por ejemplo esputo, orina, líquido raquídeo o aspirado, deben colocarse sobre un portaobjetos en una gota de hidróxido potásico (KOH, *potassium hydroxide*) al 10 a 20%; después de aplicar un cubreobjetos, se examina el portaobjetos bajo el microscopio con objetivos de potencia baja y alta (450x). El KOH disuelve cualquier tipo de tejido; las paredes celulares micóticas, resistentes, muy insensibles, se tornan más visibles. Este procedimiento asimismo puede utilizarse para examinar muestras de tejido raspado o picado. La sensibilidad de la solución de KOH mejora con adición de calcoflúor blanco, que es una tinción de la pared celular del hongo no específica, visible con un microscopio de fluorescencia. La detección de hongos en pus, exudados viscosos y tejido picado también se puede examinar con preparaciones de KOH mediante calentamiento suave del portaobjetos para disolver los residuos de tejido excesivo y células inflamatorias. Los hongos también pueden observarse en frotis de sangre, LCR y otras preparaciones tratadas con tinción de Gram o Wright.

En muestras de biopsia fijada con formalina, los hongos pueden detectarse con tinción histopatológica de hematoxilina y eosina (H&E) corriente. Sin embargo, son más sensibles las tinciones especializadas de pared celular de hongos. Las dos tinciones más comunes son la de plata de metenamina de Gomori (GMS, *gomori-methenamine silver*) y ácido peryódico y colorante de Schiff (PAS, *periodic acid-Schiff*), las cuales tiñen las paredes celulares de negro o rojo, de forma respectiva. Otras tinciones especializadas, por ejemplo las tinciones de cápsula para *Cryptococcus*, se describen en secciones posteriores.

Aunque la sensibilidad de los exámenes microscópicos varía con la micosis y la duración de la enfermedad, este examen puede realizarse de manera muy rápida y a veces es definitivo. En el hospedador, la mayor parte de hongos crecen como levaduras, hifas o una combinación de levaduras y seudohifas. En el cuadro 45-2 se muestra el espectro de estructuras micóticas *in vivo*. En muchos casos, los hongos que causan enfermedad sólo como levaduras, tienen el tamaño y forma con la diferencia suficiente para confirmar de inmediato un diagnóstico. En otros casos, a partir de la apariencia del hongo (p. ej., hifas no tabicadas o paredes celulares pardas) y el lugar de la muestra (p. ej., superficial o sistémica), la lista de agentes micóticos posibles es en extremo estrecha.

C. Cultivo

En la mayor parte de los casos, el cultivo es más sensible que el examen directo; debe cultivarse una porción del material obtenido para microscopia. El medio micológico tradicional, el agar dextrosa de Sabouraud (SDA, *Sabouraud's dextrose agar*), contiene glucosa y peptona modificada (pH 7.0), soporta el crecimiento de hongos y restringe el crecimiento bacteriano. Las características morfológicas de los hongos utilizados para identificación se han descrito por crecimiento en SDA. Sin embargo, otros medios, por ejemplo el agar inhibidor de hongos (IMA, *inhibitory mold agar*), impulsan la recuperación de hongos a partir de muestras clínicas. Para cultivar hongos médicos de muestras no estériles, se agregan antibióticos antibacterianos (p. ej., gentamicina, cloranfenicol) y cicloheximida a los medios para inhibir bacterias y hongos sáprobos, respectivamente. Después que se obtienen los cultivos, el agar con papa y dextrosa estimula la producción de conidios.

Para los hemocultivos, se han desarrollado varios medios de caldo comerciales para bacterias, hongos o ambos. La mayor parte de especies de levaduras en sangre pueden detectarse y subcultivarse por tales medios en plazo de tres días. Sin embargo, los hongos pueden requerir varias semanas

CUADRO 45-2 Estructuras micóticas clave observadas en exámenes microscópicos de muestras clínicas

Morfología prefominante	Micosis
Levaduras: una o múltiples yemas	Blastomicosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, peniciliosis, esporotricosis
Levaduras con cápsulas	Criptococosis
Hifas: tabicadas	Hialohifomicosis: especies de *Aspergillus, Fusarium, Geotrichum, Trichosporon, et al.*)
Hifas: tabicadas en piel o muestras ungueales	Dermatofitosis
Hifas: no tabicadas	Mucormicosis: especies de *Rhizopus, Lichteimia, Cunninghamella, et al.*
Hifas: tabicadas; paredes celulares parduscas	Faeohifomicosis: especies de *Bipolaris, Cladosporium, Curvularia, Exserohilum, et al.*
Levaduras y seudohifas	Candidosis: especies de *Candida*
Levaduras e hifas en raspaduras de pie	Pitiriasis versicolor
Esférulas	Coccidioidomicosis
Células escleróticas: paredes celulares parduscas	Cromoblastomicosis
Gránulos de azufre	Micetoma
Artroconidios en cabello	Dermatofitosis
Conidios en cavidad pulmonar	Hialohifomicosis: especies de *Aspergillus, Fusarium, et al.*
Quistes (ascos) en muestras pulmonares	Pneumocystis

de incubación hasta tornarse positivos; así, deben utilizarse procedimientos especiales para optimizar su obtención. Las levaduras crecen mejor a 37 °C y los hongos a 30 °C. Cuando se sospecha un hongo dimórfico, se recomiendan múltiples medios y temperaturas de incubación. El método ideal para casos probables de fungemia es un tubo de centrifugación de lisis comercial, al cual se le agrega sangre de manera directa. El tubo contiene un anticoagulante y detergente para lisar los eritrocitos, que liberan células micóticas fagocitadas; el tubo, entonces, se centrifuga para sedimentar cualquier hongo. Después de decantar el líquido sobrenadante, el sedimento se suspende, se marca en placas de agar de medios micológicos y se incuba. Los cultivos positivos de la mayor parte de las levaduras u hongos pueden identificarse por fenotipos morfológicos y fisiológicos. Varios sistemas comerciales de microcultivos para levaduras tienen la capacidad de generar perfiles de asimilación de sustratos; tales perfiles pueden compararse con bases de datos grandes para identificar a la mayor parte de especies de levaduras que causan enfermedad. Como se describirá adelante, los medios especializados están disponibles para asistir en la identificación rápida de especies de *Candida*.

D. Serología

En los siguientes apartados, se describirá la manera en que la detección de anticuerpos o antígenos específicos en el suero o el LCR pueden proveer información útil sobre el diagnóstico, pronóstico o ambos. En pacientes inmunocompetenes, las pruebas de anticuerpo positivas pueden confirmar el diagnóstico, mientras que las pruebas negativas pueden excluir enfermedad micótica. Sin embargo, la interpretación de cada prueba serológica depende de su sensibilidad, especificidad y valor predictivo en la población de pacientes estudiados.

E. Métodos moleculares

Cada vez son más los laboratorios clínicos que implementan métodos basados en la detección de ácidos nucleicos, proteínas o antígenos de hongos para identificar en muestras clínicas o después de su recuperación en cultivo a los hongos que causan enfermedad. Se han publicado multiplicidad de enfoques y se dispone de muchos sistemas comerciales y no comerciales, aunque ninguno goza de aceptación general. En el siguiente decenio uno o más de tales métodos podrían implantarse como procedimiento habitual, en especial si se logra su automatización, que ayuden a realizar con rapidez el procedimiento, y detecten múltiples microbios. Asimismo, algunas plataformas tienen el potencial de utilizarse como minilaboratorios portátiles. La mayor parte de métodos basados en DNA utilizan reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para amplificar secuencias específicas de hongos de DNA ribosomal u otros genes conservados. Al comparar las secuencias de DNA de un aislado clínico con bases de datos de miles de secuencias de DNA micótica, puede identificarse el género o especie de un hongo desconocido. Este procedimiento se ha utilizado para identificar cultivos de cientos de taxones micóticos. Además, para detectar DNA micótico (sobre todo de *Candida* o *Aspergillus*) en sangre y otras muestras, varios informes han utilizado PCR.

Varias compañías han desarrollado instrumentos comerciales automatizados de identificación de hongos causantes de enfermedad basados en identificación de DNA. Para la detección, dichos instrumentos utilizan sondas de oligonucleótido que emiten una señal amplificada por fluorescencia, reactivos químicos o inmunoanálisis enzimático. Para detectar células micóticas en preparaciones en portaobjetos, puede utilizarse una prueba de hibridación *in situ* fluorescente de péptido-ácido nucleico.

Los métodos de identificación molecular a partir del DNA, por ejemplo la tipificación de secuencia de múltiples *locus* (MLST, *multilocus sequence typing*), han identificado subpoblaciones filogenéticas de muchos hongos causantes de enfermedad, incluidas especies de *Candida, Cryptococcus, Aspergillus* y *Coccidioides*. Algunos de tales subgrupos moleculares tienen relevancia clínica en la medida que se relacionan con diferencias en la distribución geográfica, susceptibilidad a los antimicóticos, manifestaciones clínicas o virulencia. Algunos de tales subgrupos pueden representar especies crípticas que no pueden diferenciarse por métodos fenotípicos.

Otro método molecular que día con día gana vigencia debido a su aplicación tanto a bacterias como a hongos patógenos, conlleva la extracción de proteínas microbianas, que luego se envian a espectroscopia de masas. Los microorganismos que causan enfermedad se identifican mediante comparación de sus tipos espectrales de proteínas con aquellos en bases de

datos de especies probadas previamente. Con la facilidad de preparación de la muestra y la disponibilidad comercial de instrumentos automatizados, la espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF, *matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight*) es ahora más accesible. En varios estudios, MALDI-TOF ha demostrado ser más exacta y rápida que los métodos convencionales. La mayor parte de los datos actuales se basan en la identificación de especies de *Candida*.

De igual manera que la prueba rápida para endotoxina, la cascada de coagulación de la hemolinfa del cangrejo de herradura (*Limulus*) también se activa por el glucano β-(1,3)-D de la pared celular del hongo. Dicha respuesta se ha explotado para cuantificar su concentración en sangre y líquido raquídeo. Las concentraciones séricas del glucano mencionado de ≥ 80 pg/ml son positivas y se relacionan con candidosis invasiva, aspergilosis, patógenos dimórficos y otras micosis.

MICOSIS SUPERFICIALES

Infecciones por *Malassezia*

La **pitiriasis versicolor** es una infección superficial crónica de prevalencia elevada del estrato córneo causada por especies de levadura lipófila, *Malassezia*. Tales levaduras pueden aislarse tanto de la piel como de la piel cabelluda normales; se consideran parte de la micobiota cutánea. Por lo tanto, las infecciones probablemente se produzcan por cepas endógenas. Hay 14 especies de *Malassezia* reconocidas en la actualidad, pero la mayor parte de casos de pitiriasis versicolor se producen por *Malassezia globosa, Malassezia furfur* o *Malassezia sympodialis*. La infección se caracteriza por manchas hipopigmentadas o hiperpigmentadas, serpentinas, aisladas, las cuales se desarrollan sobre la piel, por lo general en tórax, porción superior de la espalda, brazos o abdomen. Esos parches de piel decolorada pueden agrandarse o unirse, aunque la descamación, inflamación e irritación son mínimas. Claro está, tal afección es un problema estético importante. La pitiriasis versicolor puede presentarse a cualquier edad; la incidencia anual es de 5 a 8%. Las condiciones de predisposición incluyen el estado inmunitario del paciente, factores genéticos, además de temperatura y humedad elevadas.

La mayor parte de especies de *Malassezia* requieren lípido en el medio para crecer. El diagnóstico se confirma por examen microscópico directo con KOH de fragmentos de piel infectada. Se observan hifas cortas no ramificadas, no pigmentadas y células esféricas. Las lesiones también fluorescen con lámpara de Wood. La pitiriasis versicolor se trata con aplicaciones diarias de sulfuro de selenio. También son efectivos los azoles por vías tópica u oral. El objetivo del tratamiento es no erradicar *Malassezia* de la piel, sino reducir la población cutánea a concentraciones simbióticas de comensalismo.

Las especies de *Malassezia* descritas antes, así como *Malassezia restricta*, se consideran causa, o se les atribuye participación, de la dermatitis seborreica (p. ej., caspa). Este origen se apoya en la observación de muchos casos curados mediante tratamiento con cetoconazol. Rara vez *Malasssezia* puede causar una fungemia oportunista (más bien en lactantes) que reciben nutrición parenteral total (TPN, *total parenteral nutrition*), como resultado de contaminación de la emulsión de lípido. En la mayor parte de los casos, la fungemia es pasajera y se elimina por reemplazo de la TPN y del catéter intravenoso. Además, otra manifestación menos común de *Malassezia* es la foliculitis.

Tiña negra

El trastorno en cuestión (o tiña negra palmar) es una infección crónica superficial y asintomática del estrato córneo, causada por el hongo dematiáceo *Hortaea (Exophiala) werneckii*. El trastorno prevalece más bien en regiones costeras cálidas y en mujeres jóvenes. El aspecto de la lesión es el de una mancha oscura (parda o negra), a menudo en la palma. En el estudio microscópico de raspadura de la piel obtenida en la periferia de la lesión se observarán hifas ramificadas tabicadas y levaduras en gemación con paredes melanizadas. La tiña negra mejorará con soluciones queratolíticas y ácido salicílico o antimicóticos azólicos.

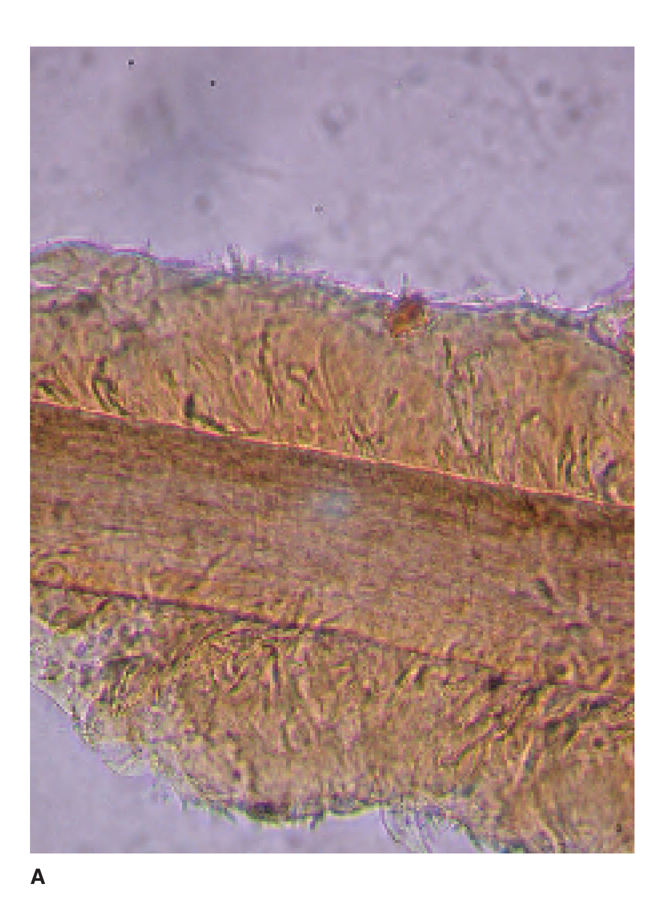
Piedra

La piedra negra es una infección nodular del tallo capilar causada por *Piedraia hortai* (figura 45-9B). La piedra blanca por infección con especies de *Trichosporon* asume inicialmente la forma de nódulos amarillentos, más blandos y mayores de los cabellos (figura 45-9A). La piedra puede infectar el vello axilar, de genitales, la barba y la piel cabelluda. El tratamiento de ambos tipos comprende la eliminación del cabello y la aplicación de un antimicótico. La piedra es endémica en países tropicales.

MICOSIS CUTÁNEAS

Dermatofitosis

Las micosis cutáneas son causadas por hongos que infectan únicamente los tejidos queratinizados (piel, cabello y uñas). Los hongos más importantes son los dermatofitos que incluyen unos 40 hongos similares que pertenecen a tres géneros: *Microsporum, Trichophyton* y *Epidermophyton*. Los dermatofitos probablemente se circunscriben a la piel no viable, porque no proliferan a 37 °C o en presencia de suero. Las dermatofitosis constituyen algunas de las infecciones más prevalentes en el mundo. Pueden ser persistentes y molestas, pero no son debilitantes ni letales, aunque, aún así, cada año se gastan millones de dólares en su tratamiento. Las infecciones por dermatofitos o tiñas, por ser superficiales, se identificaron desde la antigüedad. En la piel se les diagnostica por la presencia de hifas ramificadas, tabicadas y hialinas o cadenas de artroconidios. En cultivos, las inumerables especies guardan íntima semejanza y por ello es difícil identificarlas. Se les clasifica en especies con base en sutiles diferencias del aspecto de sus colonias, su morfología microscópica y su requerimiento de algunas vitaminas. A pesar de sus semejanzas morfológicas, exigencias nutricionales, antígenos de superficie y otras características, muchas especies han generado queratinasas, elastasas y otras enzimas que les permiten ser específicas de hospedadores. La identificación de las cepas muy afines y de brotes ha sido facilitada enormemente por el análisis de secuencias de DNA.


A


B

FIGURA 45-9 Piedra. **A:** Cabello con piedra blanca y un nódulo causado por la proliferación de *Trichosporon*. 200×. **B:** Cabello con piedra negra y un nódulo duro y negro causado por proliferación del moho dematiáceo *Piedraia hortae*. 200×.

Las varias especies dermatofíticas que tienen la capacidad de reproducirse sexualmente producen ascoesporas y pertenecen al género teleomórfico *Arthroderma*.

Los dermatofitos se adquieren por contacto con suelo contaminado o con animales o seres humanos infectados. Las especies clasificadas como geófilas, zoófilas o antropófilas dependen de su hábitat usual (suelo, animales o seres humanos). Algunos dermatofitos que viven normalmente en el suelo o afectan a determinada especie animal pueden causar infecciones en personas. En términos generales, conforme la especie evoluciona y cambia de residencia terrestre a un animal o un hospedador humano específico, pierde su capacidad de producir conidios asexuales y reproducirse sexualmente. Las especies antropófilas que ocasionan el mayor número de infecciones en seres humanos producen pocos conidios en el cultivo y a veces son difíciles de erradicar. Por el contrario, los dermatofitos geófilos y zoófilos que están menos adaptados a hospedadores humanos, producen infecciones inflamatorias más agudas cuya resolución tiende a ser más rápida.

Algunas especies antropófilas muestran circunscripción geográfica, pero otras como *Epidermophyton floccosum, Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale, T. rubrum* y *T. tonsurans* muestran distribución global. La especie zoófila más frecuente que origina infecciones en seres humanos es *Microsporum gypseum*. Entre las especies zoófilas cosmopolitas (y sus hospedadores naturales) están *Microsporum canis* (perros y gatos), *Microsporum gallinae* (aves de corral), *Microsporum nanum* (cerdos), *Trichophyton equinum* (caballos) y *Trichophyton verrucosum* (ganado bovino).

Morfología e identificación

Los dermatofitos más comunes se identifican por el aspecto de sus colonias y su morfología microscópica después de proliferar durante dos semanas a 25 °C en SDA. Especies de *Trichophyton* pueden infectar cabello, piel o uñas, y generar macroconidios cilíndricos de pared lisa y microconidios característicos (figura 45-10A). Según la variedad, las colonias de *T. mentagrophytes* pueden ser cotonosas o granulosas; en ambos tipos se observan abundantes cúmulos, similares a uvas, de microconidios esféricos en ramas terminales. En los microorganismos primarios aislados suelen identificarse hifas en espiral. La típica colonia de *T. rubrum* tiene una superficie blanca algodonosa y un pigmento rojo intenso, no difusible, cuando se le observa desde la cara trasera de la colonia. Los microconidios son pequeños y piriformes. *T. tonsurans* produce una colonia plana, polvorienta o aterciopelada en la cara anterior, que se torna rojiza o más bien parda en la cara contraria; los microconidios son predominantemente alargados (figura 45-10A).

Algunas especies de *Microsporum* tienden a producir macroconidios característicos multicelulares con paredes equinuladas (figura 45-10B). Ambos tipos de conidios se producen solos (únicos) en dichos géneros. *M. canis* forma una colonia con una superficie algodonosa blanca y en el lado contrario con un color amarillo intenso; los macroconidios de pared gruesa, de 8 a 15 células, a menudo tienen extremos curvos o en gancho. *M. gypseum* produce una colonia bronceada polvorienta y abundan en ella macroconidios de cuatro a seis células y pared fina. Las especies de *Microsporum* afectan solamente cabello y piel.

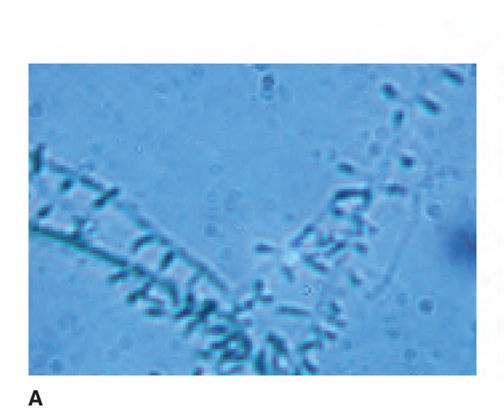






FIGURA 45-10 Ejemplos de tres géneros de dermatofitos. **A:** *Trichophyton tonsurans* se caracteriza por la generación de microconidios alargados, unidos a una hifa de sostén. **B:** *Microsporum gypseum* produce macroconidios individuales de paredes finas y también ásperas. **C:** *Epidermophyton floccosum* tiene macroconidios en forma de clava y paredes finas y lisas que se disponen típicamente en pequeños cúmulos.

Epidermophyton floccosum, que constituye el único patógeno dentro del género, produce sólo macroconidios que tienen cúmulos pequeños y formas de pared lisa, en forma de clava, de dos a cuatro células (figura 45-10C). Las colonias por lo común son planas y aterciopeladas, en un color bronceado o verde oliva. *E. floccosum* infecta la piel y las uñas, pero no el cabello.

Además de sus aspectos morfológicos macroscópicos y microscópicos, para diferenciar algunas especies son útiles algunos estudios nutricionales o de otro tipo como la proliferación a 37 °C o un método para la perforación *in vitro* de cabello. Por lo regular se identifican las cepas atípicas por una prueba de PCR con especificidad de especie.

Epidemiología e inmunidad

Las dermatofitosis comienzan en la piel después de algún traumatismo o contacto. Hay pruebas de que la susceptibilidad del hospedador puede aumentar por elementos como humedad, calor, propiedades químicas específicas de la piel, composición del sebo y sudor, juventud, exposición intensa y predisposición genética. La incidencia alcanza su máximo en días más húmedos y cálidos, y en condiciones de vida con hacinamiento. El calzado da calor y humedad al pie; con ello se tiene un entorno adecuado para infecciones de tal zona. El origen de la infección es la tierra o un animal infectado, en el caso de dermatofitosis geofílica y zoofílica, de manera respectiva. Las especies antropofílicas se transmiten por contacto directo o por objetos inanimados (fómites) como toallas, ropas contaminadas, suelos compartidos de regaderas y ejemplos similares. A diferencia de otras micosis, las causadas por dermatofitos son contagiosas y pueden ser transmitidas por exposición de escamas desprendidas de la piel, uñas o cabello que contiene hifas o conidios. Los elementos micóticos anteriores pueden permanecer viables por tiempo prolongado en objetos inanimados.

La **tricofitina** es un preparado antigénico crudo que puede utilizarse para detectar la hipersensibilidad de tipo inmediato o tardío a antígenos dermatofíticos. Muchas personas que terminan por mostrar infecciones crónicas no inflamatorias por dermatofitos tienen respuestas inmunitarias de tipo celular insatisfactorias respecto al antígeno de dermatofitos. Dichos pacientes suelen mostrar atopia e hipersensibilidad de tipo inmediato y mayores concentraciones de IgE. En el hospedador sano, la duración y el grado de la inmunidad a la dermatofitosis dependen del hospedador, el sitio y la especie de hongo que causó la infección.

Manifestaciones clínicas

Las infecciones por dermatofitos han sido descritas de forma errónea como tiñas, porque son lesiones circulares elevadas y por tradición se ha perpetuado tal terminología. Las formas clínicas se basan en el sitio de afectación. Una sola especie puede ocasionar varios tipos de infección clínica. Por el contrario, una sola forma clínica como la tiña del cuerpo puede ser causada por varias especies de dermatofitos. El cuadro 45-3 señala las causas más frecuentes de las formas clínicas comunes. En contadas ocasiones sujetos inmunodeficientes pueden presentar una infección sistémica por un dermatofito.

A. Tiña de los pies (pie de atleta)

La tiña en cuestión es la más frecuente de todas las dermatofitosis; se manifiesta por un ataque crónico de los espacios interdigitales de los pies. Otras variedades son la vesiculosa, la ulcerada y la de mocasín con hiperqueratosis de la planta. Al inicio surge prurito entre uno y otro dedo y también vesículas pequeñas que se rompen y de ellas mana un líquido acuoso. La piel del espacio interdigital muestra maceración y se descama, y con ello se producen grietas proclives a infecciones bacterianas secundarias. Cuando la micosis se torna crónica, las manifestaciones principales son el despellejamiento y las grietas de la piel, acompañadas de dolor y prurito.

CUADRO 45-3 Algunas manifestaciones clínicas de las dermatofitosis

Enfermedad cutánea	Sitio de las lesiones	Características clínicas	Hongos que suelen ser los patógenos
Tiña del cuerpo	Piel lampiña sin cabello	Manchas circulares con borde vesiculado, rojo, que se expande y escamas centrales. Cuadro prurítico	*Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum*
Tiña de los pies (pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan calzado	Cuadro agudo: prurítico con vesículas rojas. Crónico: prurítico con escamas y grietas	*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum*
Tiña inguinal	Ingle	Lesión exfoliativa eritematosa en un área intertriginosa. Cuadro prurítico	*T. rubrum, T. mentagrophytes, E. floccosum*
Tiña de la cabeza	Cabello de la cabeza. Endotrix: el hongo está en el interior del tallo capilar. Ectotrix: el hongo está en la superficie del cabello	Manchas circulares con muñones cortos de cabello o cabello roto dentro de los folículos, rara vez hay querion. Los cabellos infectados por *Microsporum* emiten fluorescencia	*Trichophyton mentagrophytes, Microsporum canis, Trichophyton tonsurans*
Tiña de la barba	Pelos de la barba	Lesión edematosa y eritematosa	*Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Trichophyton verrucosum*
Tiña de las uñas (onicomicosis)	Uñas	Las uñas se engrosan o se rompen en sentido distal; uñas manchadas y opacas. Suele acompañar a la tiña de los pies	*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum*
Dermatofítide (reacción de inmunodifusión)	Por lo común los lados y caras flexoras de los dedos de las manos. Palma. Cualquier sitio corporal	Lesiones vesiculosas pruríticas o ampollosas. A menudo acompaña a la tiña de los pies.	En la lesión no se identifican hongos; puede mostrar infección secundaria por bacterias.

B. Tiña de las uñas (onicomicosis)

La infección de las uñas puede surgir después del ataque prolongado de la tiña de los pies. Con la invasión de hifas las uñas se tornan amarillas, frágiles, engrosadas y se desintegran con facilidad. El ataque puede abarcar una uña o más de los dedos de pies o manos.

C. Tiña del cuerpo, de la ingle y de las manos

La dermatofitosis de la piel lampiña por lo común origina las lesiones anulares de la tiña, en que hay un centro claro y exfoliativo, rodeado de un borde enrojecido cada vez más amplio que puede ser seco o vesiculoso. El dermatofito prolifera solamente en tejido muerto y queratinizado, pero los metabolitos, enzimas y antígenos del hongo se difunden por las capas viables de la epidermis y ocasionan eritema, vesículas y prurito. Las infecciones por dermatofitos geófilos y zoófilos producen sustancias más irritantes y son más inflamatorias que las especies antropófilas. Conforme pasa el tiempo, las hifas suelen formar cadenas de artroconidios. Las lesiones se expanden en forma centrífuga y hay proliferación activa de las hifas en la periferia, que es la región más frecuente en la cual se puede obtener material idóneo para el diagnóstico. La penetración del estrato córneo recién formado de las superficies plantares y palmares gruesas, explica la persistencia de las infecciones en tales zonas.

Cuando la infección se sitúa en la ingle, recibe el nombre de tiña de la ingle. Muchos de estos trastornos afectan varones y el cuadro inicial es de lesiones secas, pruriginosas que suelen comenzar en el escroto y se propagan a la ingle. La tiña de las manos denota la que afecta esa zona o los dedos. Las lesiones secas exfoliativas pueden abarcar una o ambas manos, dedos aislados o dos o más de ellos.

D. Tiña de la cabeza y de la barba

La primera entidad es la dermatofitosis de la piel cabelluda y el cabello. La infección comienza cuando las hifas invaden la piel de la cabeza y más adelante se propagan en la pared queratinizada del folículo piloso. La infección del cabello se sitúa exactamente por arriba de su raíz. Las hifas proliferan en sentido descendente en la porción inerte del cabello, con la misma rapidez con que éste crece hacia arriba. El trastorno hace que surjan zonas circulares de color gris pálido, de alopecia, exfoliación y prurito. Conforme el cabello sale del folículo las hifas de la especie *Microsporum* producen una cadena de esporas que forman una vaina alrededor del tallo piloso (ectotrix); dichas esporas dan al cabello una fluorescencia verdosa o plateada cuando se les estudia con la luz de Wood (365 nm). A diferencia de ello, *T. tonsurans,* que es la causa principal de la tiña por "puntos negros" produce esporas en el interior del tallo piloso (endotrix). Los cabellos no emiten fluorescencia, están debilitados y se rompen con facilidad en el orificio folicular. En niños prepúberes, la tiña epidérmica de la cabeza por lo común cede por sí sola.

Las especies zoófilas pueden inducir una reacción combinada inflamatoria y de hipersensibilidad intensa llamada **querion**. Otra manifestación de la tiña del cabello es el favo, una infección inflamatoria aguda del folículo piloso causada por *T. schoenleinii,* que hace que se formen costras alrededor del folículo. En los cabellos atacados por el favo, las hifas no forman esporas, pero pueden identificarse en el tallo capilar. La tiña de la barba, como su nombre lo señala, afecta esta zona del cuerpo. En particular cuando participa un dermatofito zoófito puede surgir una reacción fuertemente inflamatoria que se asemeja a una infección piógena.

E. Reacción tricofítide

En el curso de la dermatofitosis la persona puede mostrar hipersensibilidad a los constituyentes o los productos del hongo y presentar manifestaciones alérgicas, llamadas dermatofítides (por lo común vesículas) en cualquier zona del cuerpo, más a menudo en las manos. La prueba cutánea con tricofitina es fuertemente positiva en tales pacientes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las muestras comprenden raspaduras de la piel y las uñas, además de cabellos arrancados de zonas afectadas. En preparaciones de KOH de piel o uñas, a pesar de las especies infectantes, se observa la ramificación de las hifas o cadenas de artroconidios (artrosporas) (figura 45-11). En cabellos, la mayor parte de especies de *Microsporum* forman vainas de esporas densas alrededor del cabello (**ectotrix**). Las esporas de ectotrix de cabellos infectados por *Microsporum* fluoresce con luz de Wood en un cuarto oscuro. Se nota que *T. tonsurans* y *Trichophyton violaceum* producen artroconidios dentro del tallo del pelo (**endotrix**).

B. Cultivo

Para identificar la especie de un dermatofito se necesita el cultivo. Las muestras son inoculadas en IMA o SDA que contiene cicloheximida y cloranfenicol para suprimir la proliferación de mohos y bacterias; se incuba durante una a tres semanas a temperatura ambiental y, si es necesario, se hacen nuevas revisiones en los cultivos con laminilla. La especie se identifica con base en la morfología de la colonia (rapidez de proliferación, contextura de la superficie y cualquier pigmentación); la morfología microscópica (macroconidios, microconidios), y en algunos casos las necesidades nutricionales de los hongos.

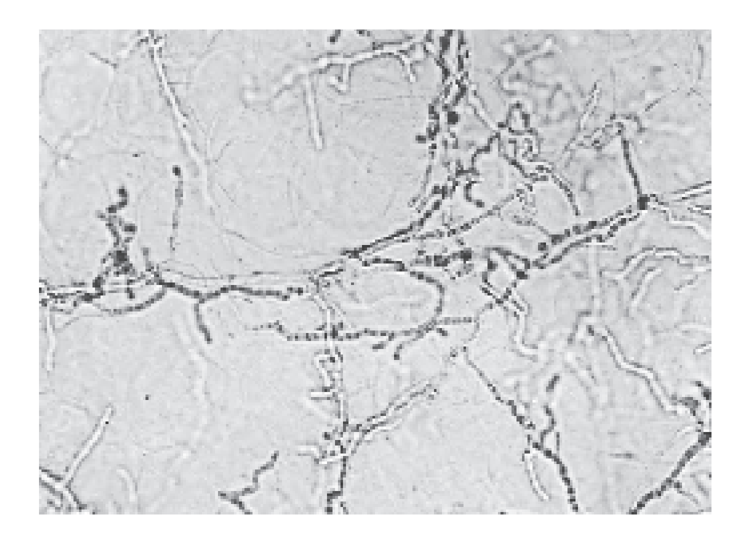


FIGURA 45-11 Dermatofitosis. Preparación de raspaduras de una lesión tiñosa sin teñir, a la que se ha agregado hidróxido potásico (para estudio microscópico. EL hidróxido ocasiona lisis de las células epidérmicas y quedan al descubierto las hifas hialinas ramificadas y tabicadas. 100x. (Reproducida con autorización de Ryan KJ, Ray CG [editors]: *Sherris Medical Microbiology,* 5a. ed. McGraw-Hill, 2010, Figura 41-6, p 700. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

Tratamiento

El tratamiento comprende la eliminación completa de las estructuras epiteliales infectadas y muertas, además de la aplicación de un antimicótico. Para evitar la nueva infección de la zona es importante conservarla seca e impedir el contacto con medios infectados, como una mascota u objetos personales de baño ajenos.

Las infecciones de la piel cabelluda (tiña de la cabeza) se tratan con griseofulvina o terbinafina durante varias semanas. Los champús y la crema de miconazol y otros antimicóticos tópicos pueden ser eficaces si se utilizan durante semanas. Otros fármacos son el cetoconazol y el itraconazol; son muy eficaces.

Para la tiña del cuerpo, tiña del pie e infecciones relacionadas, los fármacos de mayor eficacia son el itraconazol y la terbinafina. Sin embargo, cabe recurrir a diversos preparados tópicos como el nitrato de miconazol, el tolnaftato y el clotrimazol. Si tales fármacos se aplican durante dos a cuatro semanas, como mínimo, los índices de curación por lo regular son de 70 a 100%. El tratamiento debe continuarse durante una a dos semanas después que las lesiones han cedido. En casos difíciles cabe recurrir a la griseofulvina por un lapso breve.

Las infecciones de las uñas son las más difíciles de tratar y para ello se necesita administrar durante varios meses itraconazol o terbinafina, y también la extracción quirúrgica de la uña. Son frecuentes las recidivas. Se ha desarrollado imidazol tópico nuevo, el luliconazol, para penetrar la placa ungueal; se ha demostrado eficacia potente contra dermatofitos y anicomicosis.

CONCEPTOS BÁSICOS: MICOSIS SUPERFICIALES Y CUTÁNEAS

1. Las micosis superficiales y cutáneas constituyen algunas de las enfermedades transmisibles más frecuentes
2. Casi todas las micosis superficiales y cutáneas se originan por especies de *Malassezia,* dermatofitos o *Candida* (se expondrán adelante)
3. La proliferación de los dermatofitos es inhibida por la temperatura corporal y del suero; los hongos en cuestión rara vez se tornan invasores
4. Los dermatofitos geofílicos y los zoofílicos por lo común causan lesiones inflamatorias agudas que reaccionan al tratamiento tópico en término de semanas y rara vez reaparecen
5. Los dermatofitos antropofílicos por lo común causan lesiones crónicas relativamente benignas que pueden necesitar de meses o años de tratamiento y a menudo reaparecen.

MICOSIS SUBCUTÁNEAS

Los hongos que ocasionan las micosis subcutáneas residen por lo general en la tierra o en la vegetación. Penetran en la piel o en tejido subcutáneo por inoculación traumática del material contaminado. Por ejemplo, una cortadura o abrasión superficiales pueden introducir algún moho del entorno capaz de infectar la dermis expuesta. En términos generales, las lesiones

se tornan granulomatosas y se expanden poco a poco desde el punto de implantación. La extensión a través de los linfáticos que drenan la lesión es lenta, salvo en la esporotricosis. Las micosis comentadas por lo común se circunscriben a los tejidos subcutáneos, pero en casos raros pueden generalizarse y producir una enfermedad que puede ser letal.

ESPOROTRICOSIS

Sporothrix schenckii es un hongo térmicamente dimórfico que vive en la vegetación. Reside en diversas plantas, como las yerbas, los árboles, el líquido de pantanos, rosales y otros ejemplares hortícolas. A temperatura ambiental prolifera con la forma de un moho; produce hifas tabicadas y ramificadas, conidios, y en tejido o en un medio *in vitro* a 35 a 37 °C, una levadura con pequeñas yemas. *S. schenckii,* después de su introducción traumática en la piel, origina **esporotricosis**, que es una lesión granulomatosa crónica. En forma típica, después del primer episodio sigue la propagación secundaria con ataque de vasos linfáticos que drenan la zona y ganglios linfáticos.

Morfología e identificación

S. schenckii prolifera de manera satisfactoria en los medios corrientes de agar; a temperatura ambiente las colonias jóvenes son negruzcas y brillosas, y más adelante al envejecer tienen arrugas y contornos poco precisos. La pigmentación de las cepas varía desde varios tonos de negro y gris hasta un color blanquecino. El microorganismo produce hifas tabicadas y ramificadas, y conidios pequeños característicos (3 a 5 μm), concentrados delicadamente en los extremos ahusados de los conidióforos. Los microorganismos también pueden formar conidios de mayor tamaño, directamente desde las hifas. *S. schenckii* es térmicamente dimórfico y a 35 °C en un medio muy nutritivo se transforma y reproduce en levaduras pequeñas, a menudo multigemantes de forma variable, pero frecuentemente fusiformes (de 1 a 3 × 3 a 10 μm) como se muestra en la figura 45-12.

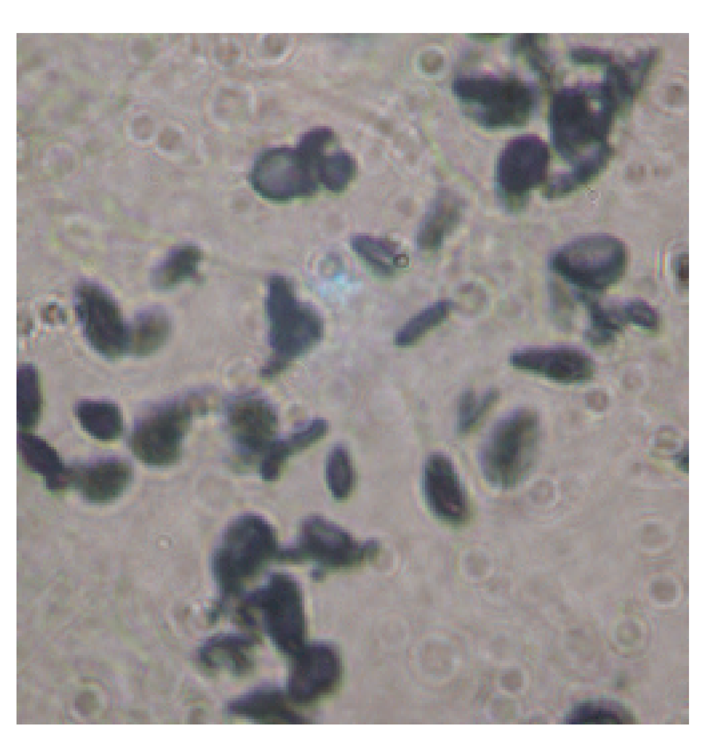


FIGURA 45-12 Esporotricosis. En el tejido cutáneo se observan levaduras esféricas pequeñas y alargadas en gemación (3-5 μm) de *Sporothrix schenckii* que captaron el color negro mediante el colorante GMS. 400×.

Estructura antigénica

Las suspensiones salinas de hongos destruidos por calor, obtenidos de cultivos o sus fracciones de carbohidrato (**esporotriquina**) desencadenarán positividad en las pruebas cutáneas tardías en seres humanos o animales infectados. Se han creado diversos métodos serológicos y muchos pacientes, así como algunos sujetos sanos, muestran anticuerpos específicos o con reactividad cruzada.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Los conidios o fragmentos de hifas de *S. schenckii* se introducen en la piel por traumatismo. El paciente suele recordar el antecedente de un traumatismo durante actividades al aire libre y el contacto con plantas. La lesión inicial suele estar en las extremidades, pero puede situarse en cualquier zona (los niños suelen tener lesiones en la cara como manifestación inicial). En promedio, 75% de los casos son linfocutáneos, es decir, la lesión inicial asume la forma de un nódulo granulomatoso que a veces evoluciona hasta formar una lesión necrótica o ulcerada. Mientras tanto, los vasos linfáticos que drenan las zonas se engrosan y tienen contextura firme. En el trayecto de los linfáticos se producen múltiples nódulos subcutáneos y abscesos.

La esporotricosis fija incluye un solo nódulo no linfangítico, circunscrito y menos progresivo. La lesión fija es más común en áreas endémicas como en México, donde hay una exposición importante e inmunidad en la población. La inmunidad frena la propagación local y la infección.

Con las lesiones mencionadas por lo común surge un cuadro generalizado mínimo, pero a veces hay diseminación, en particular, en pacientes debilitados. Raras veces la esporotricosis pulmonar primaria es consecuencia de la inhalación de los conidios; dicha manifestación remeda a la tuberculosis cavitada crónica y tiende a presentarse en sujetos con deficiencia de la inmunidad de tipo celular.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las muestras comprenden material de biopsia o exudado de lesiones granulosas o ulcerosas. Las muestras se pueden examinar directamente con KOH o calcoflúor blanco, pero rara vez se identifican levaduras. A pesar de que su número sea pequeño en los tejidos, la sensibilidad de los cortes histopatológicos aumenta con las tinciones corrientes para paredes celulares de hongos como la GMS, que tiñe de color negro dichas paredes, o PAS, que da un color rojo a dichas estructuras. Como otra posibilidad, se les identifica con la tinción de anticuerpos fluorescentes. Las levaduras tienen 3 a 5 μm de diámetro y son esféricas o alargadas.

En los tejidos se observa a menudo otra estructura que ha sido llamada cuerpo asteroide, particularmente en zonas endémicas como México, Sudáfrica y Japón. En el tejido teñido con hematoxilina y eosina el cuerpo asteroide consiste en una levadura basófila central rodeada de extensiones radiadas de material eosinófilo, que son depósitos de complejos de antígeno-anticuerpo y complemento.

B. Cultivo

El método más fiable para el diagnóstico es el cultivo. El operador inocula las muestras en estrías en agar con alguna sustancia que inhibe la proliferación de mohos o de Sabouraud que contiene antibióticos bacterianos y las incuba de 25 a 30 °C. La identificación se confirma por la proliferación de los microorganismos a 35 °C y su transformación en levaduras.

C. Serología

A menudo se detecta en las concentraciones séricas de pacientes infectados anticuerpos aglutinantes en concentraciones grandes, a las extensiones de células de levadura o a partículas de látex que cubren el antígeno. Sin embargo, tales pruebas por lo común no son útiles porque al inicio de la enfermedad no surgen concentraciones elevadas, y pacientes no infectados o que estuvieron expuestos en épocas anteriores pueden generar resultados positivos falsos.

Tratamiento

En algunos casos, la infección cede por sí sola. La ingestión de una solución saturada de yoduro de potasio en leche es muy eficaz, pero muchos pacientes no la toleran. El tratamiento más indicado es el itraconazol oral u otros azólicos. Si la enfermedad es generalizada se administra anfotericina B.

Epidemiología y control

S. schenckii está distribuido a nivel mundial, en íntima relación con plantas. Por ejemplo, se han vinculado algunos casos con el contacto del moho de los pantanos, rosales, madera en putrefacción, astillas de pino, hierbas de praderas y otra vegetación. En promedio, 75% de los casos afectaron a varones, por su mayor exposición o por una diferencia ligada al X en la susceptibilidad. La incidencia es mayor en trabajadores agrícolas y se considera que la esporotricosis es un riesgo laboral en cuidadores de bosques, horticultores y trabajadores que tienen trabajos similares. La prevención comprende medidas para llevar al mínimo la inoculación accidental, así como el uso de fungicidas, si así conviene, para tratar la madera. Los animales también son susceptibles a la esporotricosis.

CROMOBLASTOMICOSIS

La cromoblastomicosis (cromomicosis) es una micosis subcutánea causada por la inoculación traumática de alguno de los cinco hongos identificados que viven en la tierra y en la vegetación. Todos son dematiáceos y en sus paredes tienen melanina: *Phialophora verrucosa, Fonsecaea pedrosoi, Rhinocladiella aquaspersa, Fonsecaea compacta* y *Cladophialophora carrionii*. La infección es crónica y se caracteriza por lesiones granulomatosas de evolución lenta que con el tiempo inducen hiperplasia de tejidos epidérmicos.

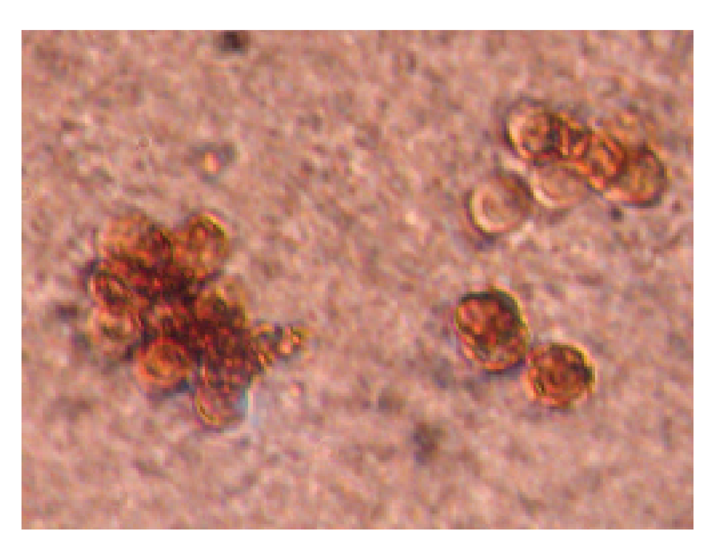


FIGURA 45-13 Cromomicosis. Se advierten en la biopsia de piel, con tinción de hematoxilina y eosina, las células escleróticas diagnósticas y melanizadas (4 a 12 μm de diámetro). 400×.

Morfología e identificación

Los hongos dematiáceos tienen semejanza en su pigmentación, estructura antigénica, morfología y propiedades fisiológicas. Sus colonias son compactas de color pardo oscuro o negro y muestran una superficie aterciopelada, a menudo con arrugas. Los agentes de la cromoblastomicosis se identifican por sus formas de generación de conidios. En los tejidos tienen un aspecto similar, con producción de células pardas esféricas (4 a 12 μm de diámetro), llamadas cuerpos muriformes o escleróticos, que se dividen por tabicación transversal. La tabicación en planos diferentes con retraso en la separación, puede originar cúmulos de 4 a 8 células (figura 45-13). Las células en las costras o exudados superficiales pueden germinar y dar origen a hifas ramificadas y tabicadas.

Los cultivos de tales hongos dematiáceos pueden distinguirse de acuerdo con lo siguiente:

A. *Phialophora verrucosa*

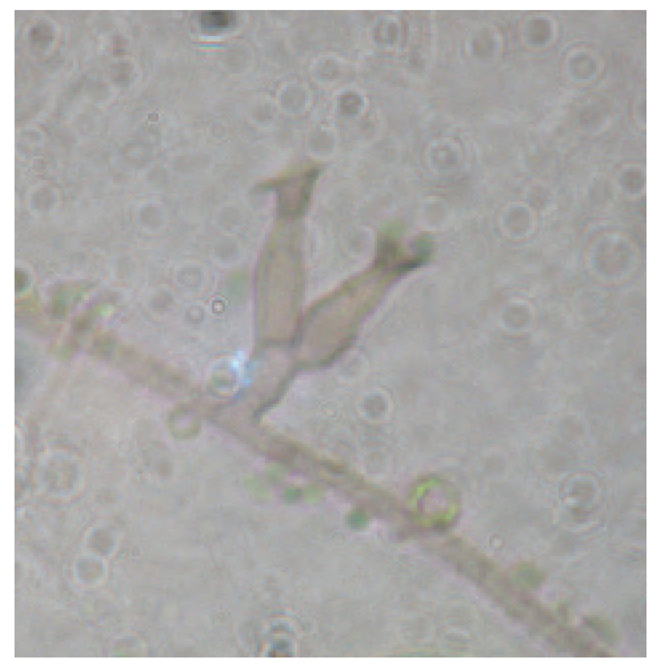
Los conidios son producidos por fialidas en forma de redomas o floreros con collaretes en copa. De la fiálide fialida salen conidios maduros, que son esféricos u ovales y por lo común se acumulan a su alrededor (figura 45-14A).

B. *Fonsecaea pedrosoi*

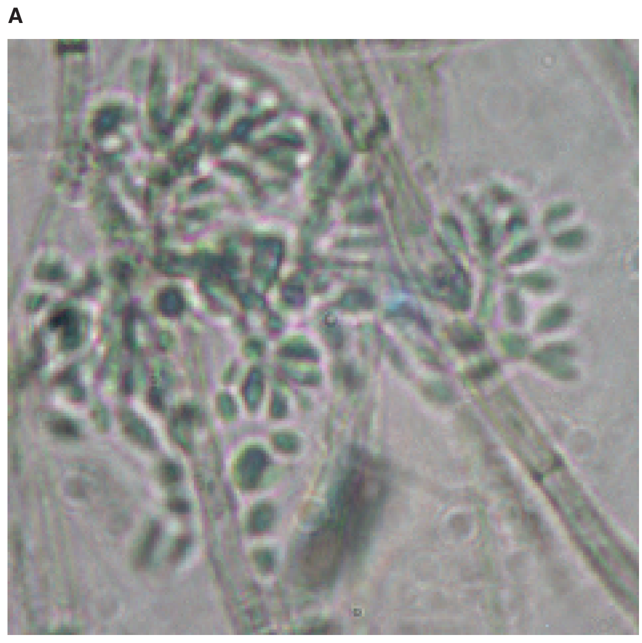
Fonsecaea es un género polimórfico. Sus miembros pueden presentar: 1) fialida; 2) cadenas de blastoconidios, signo similar al de las especies de *Cladosporium*, o 3) conidios simpódicos del tipo de la rinocladiella. Casi todas las cepas de *F. pedrosoi* forman cadenas ramificadas cortas de blastoconidios y también conidios simpódicos (figura 45-14B).

C. *Fonsecaea compacta*

Los blastoconidios producidos por *F. compacta* son casi esféricos y tienen una base amplia que los conecta a los conidios. Las



A



B

FIGURA 45-14 Conidios característicos producidos en cultivo, de los dos agentes más comunes de la cromomicosis. **A:** *Phialophora verrucosa* produce conidios de estas fialidas en forma de vasija con collaretes. 1 000×. **B:** *Fonsecaea pedrosoi* por lo común presenta cadenas de blastoconidios de ramas cortas y otros tipos de conidiogénesis. 1 000×.

estructuras son de menor tamaño y más compactas que las de *F. pedrosoi.*

D. *Rhinocladiella aquaspersa*

La especie mencionada genera conidios laterales o terminales, de una célula conidiógena en alargamiento, que es una prolongación simpódica. Los conidios tienen forma elíptica o de clava.

E. *Cladophialophora (Cladosporium) carrionii*

Especies de *Cladophialophora* y *Cladosporium* producen cadenas ramificadas de conidios por gemación distal (acropétalos). El conidio terminal de una cadena origina el siguiente por un proceso de gemación. Las especies se identifican con base en sus diferencias en la longitud de las cadenas y en la forma y tamaño de los conidios. *C. carrionii* produce conidióforos alargados, con cadenas largas ramificadas de conidios ovales.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Los hongos se introducen en la piel por traumatismos, a menudo en las piernas o los pies al descubierto. Con el paso de meses o años, la lesión primaria se torna verrugosa y similar a una verruga, con extensión en los linfáticos que drenan la zona. Al final toda el área puede estar cubierta de nódulos en forma de coliflor con abscesos que tienen costra. En la superficie verrugosa se advierten úlceras pequeñas o "manchas negras" de material hemopurulento. En raras ocasiones surge elefantiasis por infección secundaria, obstrucción y fibrosis de los conductos linfáticos. Rara vez el trastorno se disemina a otras zonas corporales, aunque pueden presentarse lesiones satélites por la propagación a través de linfáticos locales o por autoinoculación. En la imagen histológica las lesiones son granulomatosas y se identifican a veces cuerpos escleróticos oscuros dentro de leucocitos o células gigantes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras de raspaduras o biopsias de lesiones se examinan en el microscopio con KOH para células oscuras esféricas. La detección de los cuerpos escleróticos es un signo diagnóstico de la cromoblastomicosis, independientemente del agente etiológico. En los cortes de tejido se identifican granulomas e hiperplasia extensa del tejido dérmico. Es necesario cultivar las muestras en agar con sustancias que inhiban la proliferación de mohos o agar de Sabouraud con antibióticos. La especie dematiácea se identifica por sus características y estructuras conidiales, como será descito luego. Puede haber innumerables mohos dematiáceos saprofitos similares, pero difieren de la especie patógena en que no proliferan a 37 °C y digieren la gelatina.

Tratamiento

El tratamiento más indicado en el caso de lesiones pequeñas es la extirpación quirúrgica, con bordes amplios. En el caso de lesiones de mayor tamaño puede ser eficaz la quimioterapia con flucitosina o itraconazol. El calor local es beneficioso y las recidivas son frecuentes.

Epidemiología

La cromoblastomicosis se presenta más bien en los trópicos. Los hongos son saprofitos y probablemente se producen en la vegetación y en la tierra. La enfermedad afecta principalmente las piernas de trabajadores agrícolas descalzos, después de introducción del hongo por traumatismo. El trastorno mencionado no es transmisible. Es probable que la infección se evite con el uso de calzado y protección de las piernas.

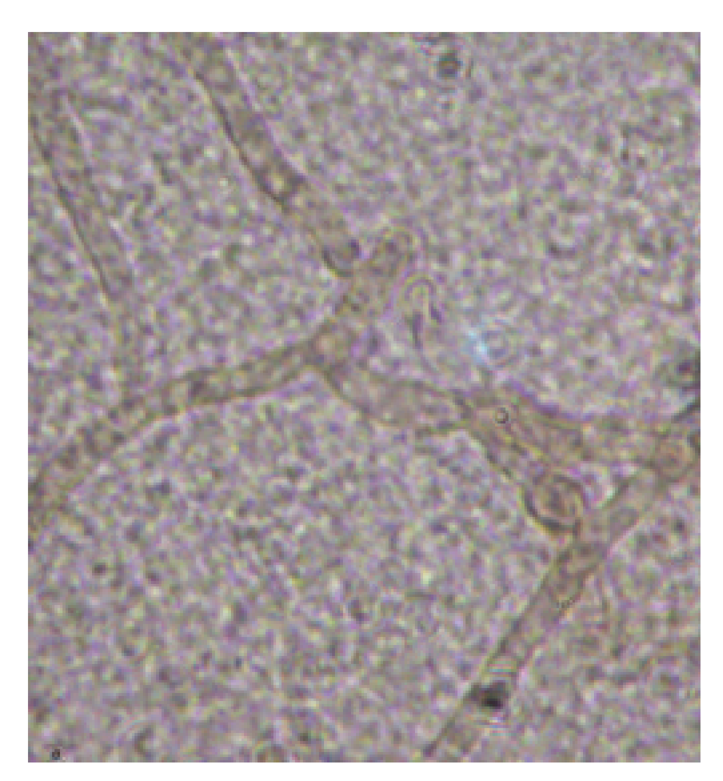


FIGURA 45-15 Feohifomicosis. En el tejido se observan hifas melanizadas. 400×.

FEOHIFOMICOSIS

La feohifomicosis es el término que se aplica a infecciones caracterizadas por la presencia en los tejidos de hifas tabicadas con pigmentación oscura. Se han descrito las infecciones cutáneas y sistémicas. Las formas clínicas varían desde los quistes solitarios encapsulados en los tejidos subcutáneos, hasta la sinusitis y los abscesos cerebrales. Se han vinculado más de 100 especies de hongos dematiáceos con varios tipos de infecciones feohifomicóticas. Todos son hongos exógenos que por lo general existen en la naturaleza. Alguno de los gérmenes que con mayor frecuencia producen feohifomicosis subcutánea son *Exophiala jeanselmei, Phialophora richardsiae, Bipolaris spicifera* y *Wangiella dermatitidis.* Las especies mencionadas y otras (como especies de *Exserohilum rostratum,* de *Alternaria* y de *Curvularia*) pueden ser causantes de la feohifomicosis sistémica. En años recientes han aumentado la incidencia de esta enfermedad y la lista de patógenos que la causan en sujetos inmunocompetentes y en los inmunodeficientes.

En los tejidos, las hifas son grandes (5 a 10 μm de diámetro), a menudo deformes, y pueden acompañarse de levaduras, pero es posible diferenciar tales estructuras de las otros hongos, por la presencia de melanina en sus paredes (figura 45-15). Las muestras se cultivan en los medios corrientes para hongos y así se identifica el agente etiológico. En términos generales, para tratar la feohifomicosis subcutánea, los fármacos más adecuados son itraconazol o flucitosina. Los abscesos cerebrales suelen ser mortales, pero si se les identifica, se les puede tratar con anfotericina B y cirugía. El microorganismo patógeno más común que causa la feohifomicosis cerebral es *Cladophialophora bantiana.*

MICETOMA

El micetoma es una infección subcutánea crónica inducida por la inoculación traumática de diversas especies de hongos saprofitos o bacterias actinomicetas que normalmente están en la tierra. Los signos clínicos que definen al micetoma son la infección local del tejido infectado y fístulas con fondo de saco húmedo que contienen gránulos, que son microcolonias del agente dentro del material hístico. Un **actinomicetoma** es un micetoma causado por un actinomiceto; un **eumicetoma** (maduromicosis o pie de Madura) es un micetoma causado por un hongo. La evolución intrínseca y el cuadro clínico de los dos tipos de micetoma son similares, pero los actinomicetomas son más invasores y se propagan del tejido subcutáneo al músculo subyacente. Por supuesto, el tratamiento es diferente. El micetoma se presenta a nivel mundial, pero más a menudo lo hace en personas pobres en áreas tropicales, donde utilizan ropas poco protectoras. Los micetomas se desarrollan sólo en forma esporádica fuera de los trópicos, pero son particularmente prevalentes en India, África y países de Latinoamérica. El tema de actinomicetomas se expone en el capítulo 12.

Morfología e identificación

Los agentes micóticos del micetoma incluyen, entre otros, *Pseudallescheria bordii* (anamórfico, *Scedosporium apiospermum*), *Madurella mycetomatis, Madurella grisea, Exophiala jeanselmei* y *Acremonium falciforme.* En Estados Unidos la especie más frecuente es *Pseudallescheria boydii,* que es autofecunda (homotálico) y capaz de generar ascosporas en cultivo. *E. jeanselmei* y la especie *Madurella* son dematiáceos. Los mohos mencionados se identifican fundamentalmente por sus mecanismos de conidiación. *P. boydii* también puede ocasionar seudoalesqueriosis, infección generalizada en individuos inmunodeficientes.

En los tejidos, el tamaño de los gránulos del micetoma puede llegar a 2 mm. El color del gránulo puede orientar respecto a la identidad del agente. Por ejemplo, los gránulos de micetoma causado por *P. boydii* y *A. falciforme* son blancos; los de *M. grisea* y *E. jeanselmei* son negros y *M. mycetomatis* produce gránulos rojos oscuros o negros. Las estructuras mencionadas son duras y contienen hifas tabicadas entremezcladas de 3 a 5 μm de ancho. De forma típica, las hifas están deformes y agrandadas en la periferia del gránulo.

Patogenia y manifestaciones clínicas

El micetoma se desarrolla después de la inoculación traumática con tierra contaminada con algunos de los agentes patógenos. El trastorno afecta con mayor frecuencia tejidos subcutáneos de los pies, extremidades pélvicas, manos y zonas al descubierto. Sea cual sea el agente, el cuadro patológico se caracteriza por supuración y abscesos, granulomas y fístulas húmedas que contienen los gránulos; el proceso mencionado se puede propagar a músculo y hueso vecinos. Sin tratamiento, las lesiones persisten años y pueden abarcar zonas más profundas y periféricas, lo cual origina deformación y pérdida de la función.

En muy raras ocasiones *P. boydii* se disemina en un hospedador inmunodeficiente o produce infección de un cuerpo extraño (como un marcapaso cardiaco).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Es posible separar los gránulos del pus o de material de biopsia para su estudio y cultivo en medios apropiados. Elementos útiles para identificar el agente causal son el color del gránulo, su textura y tamaño, así como la presencia de hifas hialinas o pigmentadas (o bacterias). Los micetomas húmedos a menudo muestran sobreinfección con estafilococos y estreptococos.

Tratamiento

El tratamiento del eumicetoma es difícil y comprende el desbridamiento o la extirpación quirúrgica y la quimioterapia. La infección por *P. boydii* se trata con nistatina o miconazol tópicos. En el caso de infecciones por *Madurella* se recomienda usar itraconazol, cetoconazol e incluso anfotericina B, y en la infección por *E. jeanselmei*, usar flucitosina. Los fármacos deben administrarse por periodos largos para que penetren adecuadamente en las lesiones.

Epidemiología y control

Los microorganismos que ocasionan el micetoma están en la tierra y en la vegetación. Por tal razón, a menudo los trabajadores agrícolas descalzos están expuestos a ellos. Medidas razonables de control son la limpieza apropiada de heridas y el uso de calzado.

CONCEPTOS BÁSICOS: MUCOSIS SUBCUTÁNEAS

1. Las mucosis subcutáneas pueden ser causadas por docenas de mohos ambientales que están en la vegetación y la tierra.
2. Las infecciones mencionadas por lo común se transmiten a través de cortaduras o excoriaciones pequeñas en que se introducen tierra o restos vegetales (como astillas de madera o espinas que contienen el hongo patógeno). Las infecciones que así surgen suelen ser crónicas, pero rara vez se propagan a tejidos más profundos.
3. *Sporothrix schenckii*, la causa de la esporotricosis, es un hongo dimórfico que en vez del crecimiento por hifas se transforma en células de levadura dentro del hospedador.
4. Un signo diagnóstico de la cromoblastomicosis es la imagen microscópica de cuerpos escleróticos esféricos parduscos (melanizados) dentro de las lesiones.
5. El signo diagnóstico de las faeohifomicosis es la presencia de hifas tabicadas parduscas (melanizadas) dentro de las lesiones
6. El signo característico de un micetoma es la hinchazón localizada y la formación de fístulas que contienen gránulos duros compuestos de hifas y tejido inflamatorio (como macrófagos, fibrina).

MICOSIS ENDÉMICAS

Cada una de las cuatro micosis sistémicas primarias (coccidioidomicosis, histoplasmosis, blastomicosis y paracoccidioidomicosis) está circunscrita geográficamente a áreas específicas endémicas. Los hongos que causan coccidioidomicosis e histoplasmosis aparecen en la naturaleza en la tierra seca o en la que se mezcla con guano, respectivamente. Se supone que los agentes de la blastomicosis y de la paracoccidioidomicosis viven en la naturaleza, pero no se ha definido con claridad su hábitat. Las cuatro micosis son causadas por hongos dimórficos térmicamente, y muchas infecciones comienzan en los pulmones después de inhalar los conidios respectivos. Casi todas las infecciones son asintomáticas o de poca intensidad y muestran resolución sin tratamiento. Sin embargo, un número pequeño pero importante de pacientes termina por mostrar neumopatía, que puede incluir la diseminación desde los pulmones a otros órganos. Con raras excepciones, las micosis mencionadas no se transmiten entre seres humanos o en otros animales. El cuadro 45-4 resume y diferencia algunas de las características fundamentales de las micosis sistémicas o profundas.

En lo que respecta a todas las infecciones mencionadas, los macrófagos alveolares son los que inicialmente defienden al hospedador y ellos pueden inactivar los conidios e inducir una potente respuesta inmunitaria. El proceso culmina de forma

CUADRO 45-4 **Resumen de las micosis endémicas**[a]

Micosis	Microorganismo patógeno	Aspectos ecológicos	Distribución geográfica	Forma hística
Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*	Hábitat de aves y murciélagos (guano), tierra alcalina	Global; endémica en los valles fluviales de Ohio, Missouri y Mississippi; África Central (var. *duboisii*)	Levaduras ovales de 2 × 4 μm, dentro de los macrófagos
Coccidioidomicosis	*Coccidioides posadasii* o *Coccidioides immitis*	Suelo y roedores	Regiones semiáridas del suroeste de Estados Unidos, México y Centroamérica y Sudamérica	Esférulas de 10 a 80 μm, que contienen endosporas de 2 a 4 μm
Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	Se desconoce ¿riberas?)	Valles fluviales de Mississippi, Ohio y San Lorenzo; sureste de Estados Unidos	Levadura de pared gruesa con base amplia por lo común de una sola yema, de 8 a 15 μm
Paracoccidioidomicosis	*Paracoccidioides brasiliensis*	Se desconoce (¿suelo?)	Centroamérica y Sudamérica	Grandes levaduras de múltiples yemas, de 15 a 30 μm

[a]Las cuatro micosis endémicas son causadas por hongos dimórficos que están en la naturaleza en la forma de mohos que producen hifas tabicadas hialinas y los conidios característicos. La infección se contagia al inhalar los conidios. Con excepción de la blastomicosis, las pruebas refuerzan la posibilidad de una gran frecuencia de infección dentro de áreas endémicas. Más de 90% de las infecciones se observan en personas inmunocompetentes, el 75 a 90% en varones y 60 a 95% son asintomáticas y ceden por sí mismas o están en fase de latencia. La enfermedad sintomática se produce a menudo en personas inmunodeficientes, incluidas las infectadas por VIH/sida.

típica con el desarrollo de inflamación granulomatosa y la producción de inmunidad mediada por anticuerpos y por células. La inducción de las citocinas Th1 (como interleucina-12, interferón γ o factor α de necrosis tumoral), reforzarán las defensas celulares, activarán macrófagos e intensificarán su capacidad fungicida. En un hospedador inmunocompetente las respuestas culminan en la resolución de las lesiones inflamatorias. Sin embargo, los granulomas residuales pueden tener microorganismos inactivos con la posibilidad de que más tarde se reactiven y ello constituya la forma latente de la enfermedad. En las áreas endémicas en que viven los hongos en cuestión, muchas infecciones se producen en sujetos inmunocompetentes, pero están expuestos a un mayor riesgo de infección grave los individuos con deficiencia de su inmunidad celular como los pacientes infectados por VIH y los que tienen síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Las cepas de muchos hongos patógenos presentan enormes variaciones en relación con las técnicas de laboratorio para identificar su patogenia. En lo que se refiere a los agentes de micosis endémicas, la virulencia depende de la presencia de un α-glucano en la pared celular del hongo, tal vez al ocultar perfiles moleculares propios de la patogenicidad que desencadenan respuestas inmunitarias protectoras.

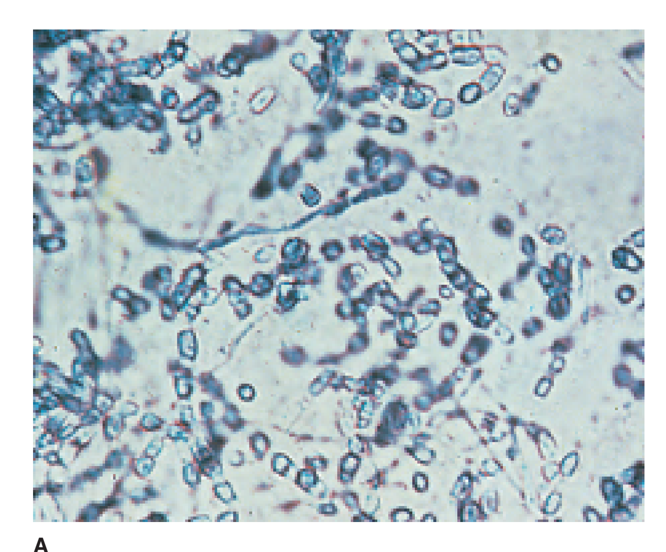
COCCIDIOIDOMICOSIS

Las coccidioidomicosis se producen por *Coccidioides posadassii o C. immitis.* Estas especies hermanas se identificaron por análisis genotípicos y filogenéticos. Sin embargo, prácticamente son idénticas en cuanto a su fenotipo, ocasionan manifestaciones clínicas similares y no se les puede diferenciar en el laboratorio. La coccidioidomicosis es endémica en regiones semiáridas perfectamente delimitadas en la zona suroccidental de Estados Unidos y Centro y Sudamérica. La infección por lo común cede por sí sola y la diseminación es rara, pero siempre es grave y a veces mortal. El estudio de cepas clínicas y ambientales de *Coccidioides* aisladas ha indicado que las dos especies no están distribuidas de manera uniforme en las regiones endémicas. Se advierte moderado traslape, pero la distribución de *C. immitis* se circunscribe en gran medida a California, en tanto que *C. posadassi* predomina en Arizona, Texas y Sudamérica.

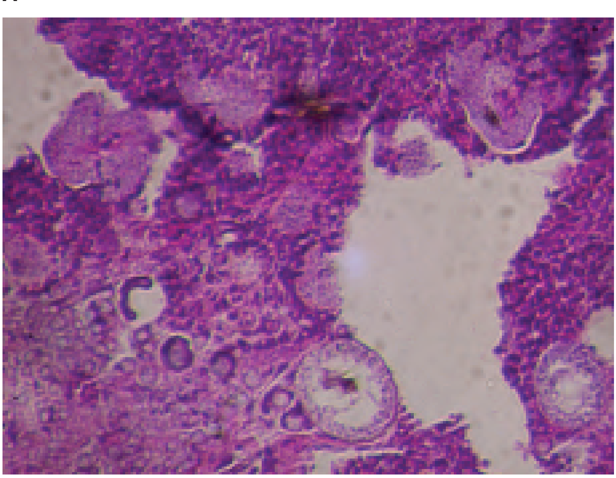
Morfología e identificación

Gran parte de las infecciones probablemente son causadas por *C. posadasii.* Sin embargo, dado que en el laboratorio es imposible identificar fácilmente una y otra especie y las manifestaciones clínicas son las mismas con *C. immitis o C. posadassii,* en este capítulo se utilizarán los nombres antiguos más conocidos de las especies.

En casi todos los medios de laboratorio *C. immitis* genera una colonia algodonosa de color blanco o bronceado. Las hifas forman cadenas de artroconidios (artrosporas) que a menudo terminan por producir células alternas de una hifa. Estas cadenas se fragmentan en artroconidios individuales que con facilidad viajan por el aire y son muy resistentes al entorno adverso (figura 45-16A). Los pequeños artroconidios (3 × 6 μm) persisten viables durante años y son muy infectantes. Una vez inhalados, los artroconidios asumen forma esférica y se agrandan y forman esférulas que contienen endosporas (figura 45-16B). Las **esférulas** también surgen en el laboratorio por el cultivo en un medio complejo.



A



B

FIGURA 45-16 Especies de *Coccidioides* e imagen de la coccidioidomicosis. **A:** en el cultivo a temperatura ambiental, *Coccidioides posadasii* produce hifas tabicadas hialinas y artroconidios. 400×. **B:** en este corte del pulmón se advierten grandes esférulas que contienen endosporas. Hematoxilina y eosina. 200×.

En los cortes histológicos, en el esputo u otras muestras, la presencia de esférulas confirma la identificación y el diagnóstico de *C. immitis.* Al madurar, las esférulas tienen una pared gruesa doblemente refráctil y pueden alcanzar un diámetro de 80μm. Ellas quedan acomodadas en forma apiñada con las endosporas (2 a 5 μm de tamaño). Al final la pared se rompe y libera las endosporas que pueden transformarse en nuevas esférulas (figura 45-16B).

Estructura antigénica

Se cuenta con dos antígenos clínicamente útiles. La **coccidioidina** es un preparado antigénico del material filtrado de un cultivo líquido y micelial de *C. immitis.* La **esferulina** es producida a partir del filtrado del caldo de cultivo en que están las esférulas. En dosis estandarizadas, los dos antígenos

desencadenan reacciones cutáneas tardías positivas en sujetos infectados. También se les ha utilizado en diversos métodos serológicos para medir anticuerpos séricos contra *C. immitis.*

Patogenia y manifestaciones clínicas

La inhalación de los artroconidios causa infección primaria, que en 60% de las personas es asintomática. El único signo de infección es la identificación de precipitinas séricas y la conversión a una prueba cutánea positiva en cuestión de dos a cuatro semanas. El nivel de precipitinas disminuirá, pero la prueba cutánea suele permanecer positiva toda la vida. El 40% restante de personas termina por mostrar un cuadro similar al de gripe (influenza), que cede por sí mismo, e incluye fiebre, malestar general, tos, artralgias y cefaleas. El trastorno ha sido llamado **fiebre del valle**, del valle de San Joaquín o reumatismo del desierto. Después de una a dos semanas en promedio, 15% de los pacientes mencionados muestran reacciones de hipersensibilidad, cuyas manifestaciones iniciales son erupciones y eritema nudoso o multiforme. En los estudios radiográficos, en forma típica, se advierte en los enfermos adenopatía hiliar junto con infiltrados pulmonares, neumonía, derrame pleural o nódulos. En alrededor de 5% de los pacientes quedan secuelas pulmonares, por lo común en la forma de un nódulo solitario o una cavidad de paredes delgadas (figura 45-17).

Menos de 1% de las personas infectadas por *C. immitis* terminan por mostrar coccidioidomicosis secundaria o diseminada, que suele ser debilitante y a veces mortal. Entre los factores de riesgo para que surja tal forma de la enfermedad están herencia, sexo, edad y deficiencias de la inmunidad mediada por células. La enfermedad afecta más a menudo algunos grupos raciales y en orden decreciente de peligro son: filipinos, afroestadounidenses, estadounidenses nativos, personas de extracción hispánica y asiáticos. Existe netamente un componente genético en la respuesta inmunitaria a *C. immitis.* Los varones son más susceptibles que las mujeres, con excepción de las embarazadas; tal situación pudiera depender de diferencias en la respuesta inmunitaria o a un efecto directo en el hongo de las hormonas sexuales. Por ejemplo, *C. immitis* posee proteínas que fijan estrógeno y los mayores niveles de estradiol y progesterona estimulan su proliferación. Los sujetos de muy corta edad y los muy ancianos están expuestos a un riesgo mayor. Se necesitan las respuestas inmunitarias para que el sujeto cuente con resistencia adecuada y, por esta razón, los enfermos de sida u otros cuadros en que hay inmunodepresión celular, están en peligro de presentar coccidioidomicosis diseminada.

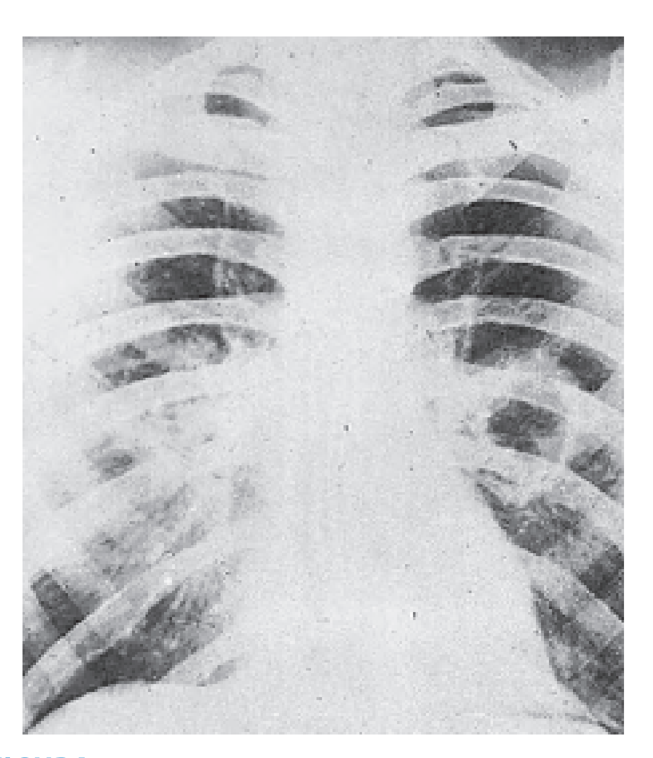


FIGURA 45-17 Radiografía de tórax de un enfermo de coccidioidomicosis, en que se observa linfadenomegalia hiliar y una cavidad en el pulmón izquierdo.

Algunos individuos muestran al final una neumopatía crónica pero progresiva, en que surgen nódulos con cavidades que se multiplican o agrandan. La diseminación por lo común se produce en término de 12 meses de la infección primaria. Las esférulas y las endosporas se propagan por extensión directa o por el torrente sanguíneo. Pueden abarcar diversos sitios extrapulmonares, pero los órganos que afectan con mayor frecuencia son la piel, los huesos y las articulaciones, y las meninges. En cada una de las áreas mencionadas del cuerpo y en otras se advierten manifestaciones clínicas peculiares de las infecciones por *C. immitis.*

El trastorno se disemina cuando la respuesta inmunitaria no es adecuada para frenar los focos pulmonares. En casi todas las personas la positividad de la prueba cutánea denota que la reacción inmunitaria mediada por células es potente y protege de la reinfección. Sin embargo, si las personas en cuestión muestran inmunodepresión con tratamiento con citotóxicos o a causa de enfermedades como el sida, se producirá diseminación años después de la infección primaria (enfermedad por reactivación). El cuadro inicial de la coccidioidomicosis en sujetos con sida es una neumonitis reticulonodular difusa y rápidamente mortal. Ante la gran similaridad radiológica en el cuadro de esta enfermedad y la neumonía por *Pneumocystis* y los tratamientos que difieren en una y otra entidades, es importante que el médico se percate de la posibilidad de neumonía por coccidioides en sujetos con sida. Los hemocultivos denotan la presencia de *C. immitis* (positividad).

En el estudio histológico las lesiones por coccidioides contienen granulomas típicos con células gigantes y, en las zonas intercaladas, pus. El diagnóstico se hace por detección de esférulas y endosporas. La evolución clínica suele caracterizarse por remisiones y recidivas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las muestras para cultivos incluyen esputo, exudado de lesiones cutáneas, LCR, sangre, orina y fragmentos de tejido para biopsia.

Es importante que el material que se examina sea fresco (después de centrifugación si es necesario) para identificar las típicas esférulas. La detección de ellas y de las endosporas se facilita con KOH o calcoflúor blanco (figura 45-16B). Tales estructuras a menudo se detectan en preparados histológicos teñidos con H&E, GMS, o PAS.

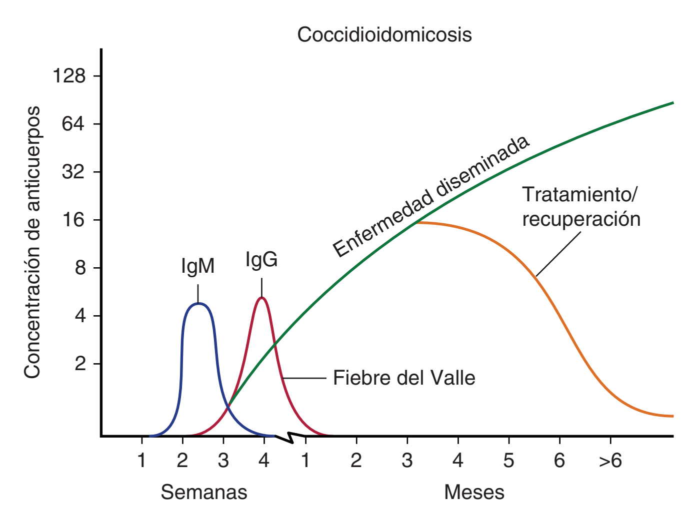


FIGURA 45-18 En personas que no tienen sida las concentraciones de anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG) contra coccidioidina guardan relación inversa con la intensidad de la coccidioidomicosis. Abreviaturas: IgM, inmunoglobulina M. (Reproducido con autorización de Ryan KJ, Ray CG [editors]: *Sherris Medical Microbiology*, 5a. ed. McGraw-Hill, 2010, figura 46-10 p 753. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

B. Cultivos

Los cultivos en agar con sustancias que inhiben la proliferación de mohos o infusión cardioencefálica, se incuban a una temperatura ambiental o a 37 °C. Los medios se preparan con antibacterianos o sin ellos y cicloheximida, para inhibir la proliferación de bacterias contaminantes y mohos saprofitos. Los artroconidios son muy infectantes y por esa razón los cultivos sospechosos se examinarán en una cabina de bioseguridad (figura 45-16A). La identificación se confirmará al detectar el antígeno específico de *C. immitis*, por una técnica de inoculación en animales, o por el empleo de una sonda de DNA específica.

C. Serología

En término de dos a cuatro semanas de la infección se detectan anticuerpos de tipo IgM a la coccidioidina, por medio de la prueba de aglutinación de látex. Los anticuerpos IgG específicos se detectan por métodos de inmunodifusión (ID) o fijación de complemento (CF). Una vez que el episodio primario mostró resolución, en término de meses disminuye el nivel de dichos anticuerpos. A diferencia de ello, en la coccidioidomicosis diseminada la concentración de anticuerpos en CF sigue en aumento. Las concentraciones mayores de 1:32 denotan diseminación y su disminución durante el tratamiento sugiere mejoría (figuras 45-18 y cuadro 45-5). Sin embargo, las concentraciones en CF menores de 1:32 no descartan la posibilidad de coccidioidomicosis. En consecuencia, sólo la mitad de los enfermos de meningitis por coccidioides muestran incremento de anticuerpos séricos, pero las concentraciones de anticuerpos en el LCR pueden ser grandes. En enfermos de sida con coccidioidomicosis, los métodos serológicos mencionados arrojan resultados negativos frecuentemente.

D. Pruebas cutáneas

La prueba cutánea con coccidioidina alcanza su máximo endurecimiento (≥ 5 mm de diámetro) entre las 24 y las 48 h después de la inyección intracutánea de 0.1 ml de una solución estandarizada. Si los sujetos con la forma diseminada se tornan alérgicos, la prueba cutánea arrojará resultados negativos, lo cual denota un pronóstico muy insatisfactorio. Pueden presentarse reacciones cruzadas con antígenos de otros hongos. La esferulina es más sensible que la coccidioidina para detectar a las personas reactoras. Las reacciones a las pruebas cutáneas tienden a disminuir en tamaño e intensidad años después de la infección primaria en personas que residen en áreas endémicas, pero la prueba cutánea tiene un efecto de refuerzo. Después que el sujeto se recupera de la infección primaria, por lo regular es inmune a la reinfección.

Tratamiento

En casi todas las personas la infección primaria sintomática cede por sí sola y se necesita solamente tratamiento de apoyo, aunque el itraconazol puede aplacar los síntomas. Sin embargo, los individuos con la forma grave de la enfermedad necesitan recibir anfotericina B por vía endovenosa. El régimen anterior puede ser seguido por un lapso de la ingestión de itraconazol durante varios meses. Algunos pacientes de meningitis por coccidioides han sido tratados por fluconazol oral que muestra penetración satisfactoria del sistema nervioso central (SNC); sin embargo, se necesita tratamiento a largo plazo y se sabe de recidivas. Los azólicos no son más eficaces que la anfotericina B, pero su administración es más fácil y su empleo se acompaña de un número menor de efectos secundarios menos intensos. Con las nuevas emulsiones lípidas de anfotericina B es posible que se administren dosis mayores y ejerzan menos efectos tóxicos. A veces se necesita la extirpación quirúrgica de cavidades primarias, que suele ser curativa.

Epidemiología y control

Las áreas endémicas de *Coccidioides* son zonas semiáridas, similares a las zonas biogeográficas bajas de Sonora; incluyen estados del suroeste de Estados Unidos, particularmente los valles de San Joaquín y Sacramento de California, áreas que circundan Tucson y Phoenix en Arizona, el valle del Río Grande y zonas similares Centro y Sudamérica. Dentro de tales regiones se puede aislar *Coccidioides* de la tierra y de roedores propios de la región, y el nivel de reactividad de pruebas cutáneas en la población denota que han tenido la infección muchos seres humanos. El índice de la infección alcanza su máximo en los meses secos del verano y del otoño en que prevalecen más las tolvaneras con viento y arena. Una elevada incidencia de infección y enfermedades puede presentarse después de las tolvaneras mencionadas. Durante una epidemia de coccidioidomicosis en el valle de San Joaquín en California en 1991 a 1993, el índice de coccidioidomicosis aumentó más de 10 veces; se ha sugerido que la mayor precipitación pluvial en los meses de primavera de esos años constituyó un estímulo ambiental. Sin embargo, desde 1998 la incidencia ha aumentado otros diez tantos; esto no puede atribuirse a crecimiento poblacional o un mejor diagnóstico. No obstante, informes recientes han fundamentado la diseminación de coccidiomicosis hacia estados noroccidentales, incluido Washington y a pacientes sin antecedentes de viaje a regiones endémicas.

CUADRO 45-5 Resumen de métodos serológicos para detectar anticuerpos contra hongos dimórficos patógenos a nivel sistémico

Micosis	Método[a]	Antígeno[b]	Sensibilidad y valor: Diagnóstico	Sensibilidad y valor: Pronóstico[c]	Comentarios
Coccidioidomicosis	TP	C	Primoinfección temprana; son positivos 90% de los casos.	Ninguno	
	CF	C	La concentración de 1:32 o mayor equivale a *enfermedad* secundaria	La concentración refleja la intensidad (excepto en el caso de enfermedad meníngea)	Rara vez presenta reactividad cruzada con la histoplasmina
	ID	C	> 90% de los casos son positivos, es decir, bandas F *o* HL (o ambas)		Más específica que la prueba de CF
Histoplasmosis	CF	H	≤ 84% de los casos son positivos (título de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en la concentración	Reacciones cruzadas en sujetos con blastomicosis, criptococosis o aspergilosis; la concentración puede ser reforzada por la prueba cutánea por histoplasmina
	CF	Y	≤ 94% de los casos son positivos (concentración de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en la concentración	Reactividad cruzada menor que con la histoplasmina
	ID	H	> 85% de los casos son positivos, es decir bandas m o m y h	Pérdida de la banda h	La prueba cutánea con histoplasmina puede intensificar la banda m; es más específica que la prueba CF
Blastomicosis	CF	By	< 50% de los casos son positivos; confirma el diagnóstico la reacción únicamente al antígeno homólogo	Cambio de cuatro tantos en la concentración	Reactividad cruzada muy intensa
	ID	Bcf	≤ 80% de los casos son positivos es decir, tienen la banda A	Pérdida de la banda A	Estudio más específico y sensible que la prueba CF
	EIA	A	≤ 90% de los casos son positivos (concentración, 1:16 o mayor)	Cambio de la concentración	Especificidad de 92%
Paracoccidioidomicosis	CF	P	80 a 95% de los casos son positivos (concentración de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en la concentración	Surgen algunas reacciones cruzadas en concentraciones bajas con sueros de aspergilosis y candidosis
	ID	P	98% de los casos son positivos (bandas 1,2,3)	Pérdida de las bandas	Son idénticas la banda 3 y la m (a la histoplasmina)

[a]Pruebas: CF, fijación de complemento; ID, inmunodifusión; TP, precipitina en tubo; EIA enzimoinmunoanálisis.

[b]Antígenos: A, antígeno A de *Blastomyces dermatitidis*; Bcf, filtrado de cultivo de células de levadura *B. dermatitidis*; By, células de levadura de *B. dermatitidis*; C, coccidioidina; H, histoplasmina; P, filtrado de cultivo de células de levadura *Paracoccidioides brasiliensis*; Y, células de levadura de *Histoplasma capsulatum*. En las pruebas de inmunodifusión, los anticuerpos se detectan en los siguientes antígenos específicos de especie: *C. immitis*, F, HL; *H. capsulatum*, m y h; *B. dermatitidis*, A; y *P. brasiliensis*, 1, 2 y 3.

[c]Se consideran importantes los cambios de cuatro tantos en la cuantificación de la fijación de complemento (p. ej., disminución de 1:32 a 1:8) porque representa la desaparición del anticuerpo específico en la inmunodifusión (es decir, se torna negativo).

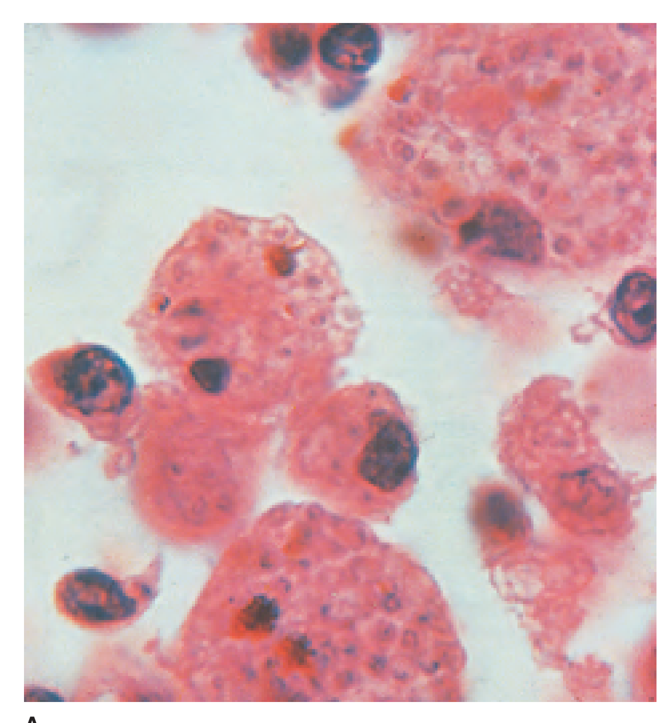
La enfermedad no es trasmisible de una persona a otra y no hay pruebas de que los roedores infectados contribuyan a su propagación. Es posible lograr la erradicación de algún modo al disminuir el polvo por la pavimentación de carreteras y campos aéreos, plantar hierbas o cosechas y utilizar aspersores de aceite.

HISTOPLASMOSIS

Histoplasma capsulatum es un saprofito dimórfico de la tierra que causa histoplasmosis, micosis pulmonar más frecuente en seres humanos y animales. En la naturaleza, dicho saprofito prolifera en la forma de moho, vinculado con tierra y hábitat de aves y enriquecidas por sustratos nitrogenados alcalinos en el guano. A nivel mundial se presentan *H. capsulatum* e histoplasmosis, desencadenada por la inhalación de conidios. Sin embargo, su incidencia varía enormemente y muchos casos se localizan en Estados Unidos. *H. capsulatum* recibió su nombre del aspecto de las levaduras en los cortes histopatológicos; sin embargo, no es protozoo ni posee cápsula.

Morfología e identificación

A temperaturas menores de 37 °C, *H. capsulatum* muestra desarrollo en colonias de mohos pardos, pero su imagen varía. Muchos de los microorganismos proliferan con lentitud y se necesitan cuatro a 12 semanas para que las muestras incubadas terminen por desarrollar colonias. Las hifas tabicadas hialinas producen microconidios (2 a 5 μm) y grandes macroconidios esféricos de pared gruesa con proyecciones periféricas de material de la pared (8 a 16 μm) (figura 45-19B). Las hifas y



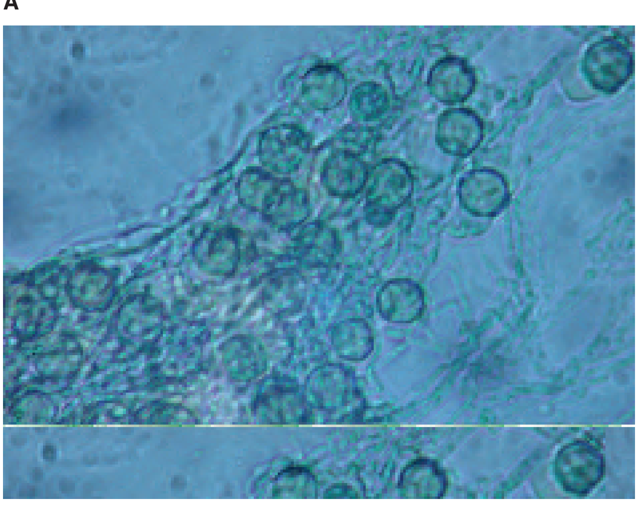


FIGURA 45-19 Histoplasmosis e *Histoplasma capsulatum*. **A:** levaduras pequeñas ovales (2 a 4 μm), en forma compacta dentro de macrófagos. Tinción de Giemsa. 1 000×. **B:** en el cultivo a temperatura ambiental *Histoplasma capsulatum* produce hifas tabicadas hialinas que llevan microconidios y grandes macroconidios esféricos. 400×.

los conidios, del tejido o *in vitro* en un medio muy nutritivo a 37 °C, se transforman en pequeñas levaduras ovales (2 × 4 μm). De forma típica, en los tejidos las levaduras se identifican en el interior de macrófagos, porque *H. capsulatum* es un parásito intracelular facultativo (figura 45-19A). En el laboratorio, con cepas de apareamiento adecuado se demuestra un ciclo sexual, que origina *Ajellomyces capsulatus,* teleomorfo que produce ascosporas.

Estructura antigénica

La histoplasmina es un antígeno crudo, pero estandarizado, obtenido por filtración del caldo de cultivo en que están micelios. Después de la infección inicial, asintomática en más de 95% de las personas, se desarrolla una prueba cutánea tardía y positiva a la histoplasmina. Por métodos serológicos se miden anticuerpos contra los antígenos de levadura y micelios (cuadro 45-5). Un antígeno polisacárido no caracterizado puede detectarse serológicamente en suero y otras muestras (cuadro 45-6).

Patogenia y manifestaciones clínicas

Una vez inhalados, los conidios evolucionan y se transforman en levaduras y son fagocitados por macrófagos alveolares; en su interior pueden mostrar réplica. En el interior de los macrófagos las levaduras se diseminan a los tejidos reticuloendoteliales como el hígado, el bazo, la médula ósea y ganglios linfáticos. La reacción inflamatoria inicial se torna granulomatosa. En más de 95% de los enfermos la inmunidad de tipo celular resultante origina la secreción de citocinas que activan macrófagos para inhibir la proliferación intracelular de las levaduras. Algunas personas, como las inmunocompetentes que inhalan un inóculo abundante, terminan por mostrar histoplasmosis pulmonar aguda, que es un síndrome que cede por sí mismo y es similar a la gripe con fiebre, escalofríos, mialgias, cefalea y tos no productiva. En el estudio radiográfico muchos enfermos mostrarán linfadenopatía hiliar e infiltrados o nódulos pulmonares. El cuadro sintomático muestra resolución espontánea sin tratamiento, y los nódulos granulomatosos en los pulmones u otros sitios curan sin calcificarse.

La histoplasmosis pulmonar crónica se observa más a menudo en varones y por lo común constituye un proceso de reactivación, es decir, la activación de una lesión asintomática surgida años antes; dicha reactivación suele ser desencadenada por daño pulmonar, como el que se observa en el enfisema.

La histoplasmosis diseminada intensa se desarrolla sólo en algunos sujetos infectados, en particular lactantes, ancianos y pacientes inmunodeprimidos que incluyen los enfermos de sida. Hay gran facilidad de ataque del sistema reticuloendotelial y surgen linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia, fiebre alta, anemia y un índice alto de mortalidad sin el tratamiento antimicótico. Se observan a veces úlceras mucocutáneas de vías nasales, boca, lengua e intestinos. En tales personas, los estudios histológicos indican la presencia de áreas locales de necrosis dentro de granulomas en muchos órganos. Las levaduras pueden desarrollarse en macrófagos de la sangre, el hígado, el bazo y la médula ósea.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las muestras para cultivo incluyen esputo, orina, raspaduras de lesiones superficiales, material de aspiración de médula ósea y la capa leucocítica. Se pueden estudiar en microscopio las muestras de sangre y médula ósea, además de muestras de biopsia. En la histoplasmosis diseminada, se identifica el microorganismo en los cultivos de médula ósea. Es posible observar en el interior de macrófagos células ovoides pequeñas en cortes histológicos teñidos con tinción para hongos (como la GMS), el PAS o en muestras teñidas con Giemsa, de médula ósea o de sangre (figura 45-19A).

CUADRO 45-6 Pruebas de laboratorio para antígenos micóticos en muestras clínica

Micosis	Muestra	Antígeno	Prueba	Sensibilidad	Especificidad	Comentarios
Histoplasmosis	Suero, orina	HPA	EIA	88 a 92	≤ 100	Reacciones cruzadas con otras micosis; mayor sensibilidad en pacientes de sida
Candidosis sistémica	Suero	M	EIA	52 a 6	86 a 93	Umbral positivo > 0.5 ng/ml
		BDG	Coag	77 a 81	91 a 100	Reacciones cruzadas con otras micosis; más exacta a 80 pg/ml o más
Criptococcosis	Suero	GXM	LA, EIA	90	95 a 100	Reacciones cruzadas con *Trichosporon, Stomacoccus, Capnocytophaga*
			LFA	87 a 91	87 a 100	
	LCR		LA, EIA	97	86 a 100	
			LFA	99	99	
	Orina		LFA	70 a 80	92	*Rápida, prueba de 20 min*
Aspergilosis	Suero	BDG	Coag	55 a 95	71 a 96	Reacciones cruzadas con otras micosis, bacteriemia; mayor exactitud a ≥80 pg/ml
		GM	EIA	49 a 71	89 a 97	Reacciones cruzadas con otras micosis
		GP	LFA	82	98	Prueba cualitativa rápida
	BAL	BDG	Coag	80	76	Umbral en 80 pg/ml o más
		GM	EIA	70 a 90	94 a 98	Reacciones cruzadas con otras micosis
		GP	LFA	80	95	
Neumocistis	Suero	BDG	Coag	95	86	Reacciones cruzadas con otras micosis, bacteriemia

Muestras: BAL, líquido de lavado broncoalveolar; LCR, líquido cefalorraquídeo.

Antígenos: BDG, glucano 1,3-β-D de pared celular; GM, galactomanano de pared celular; GP, glucoproteína secretada; GXM, glucuronoxilomanano capsular; HPA, antígeno de polisacárido de *Histoplasma*; M, manano de *Candida*.

Pruebas: Coag, coagulación de Limulus; EIA, enzimoinmunoanálisis; LA, aglutinación con látex; LFA, análisis de flujo lateral.

Valoraciones clínicas de sensibilidad y especificidad conllevan pacientes en riesgo de micosis invasivas.

B. Cultivo

Las muestras se cultivan en medios con abundantes nutrientes como el agar sangre con glucosa y cisteína a 37 °C y en SDA o agar con sustancias que inhiben la proliferación de mohos a 25 a 30 °C. Los cultivos deben incubarse por lo menos durante cuatro semanas. Hay que alertar al personal de laboratorio ante la sospecha de histoplasmosis, porque los métodos especiales de hemocultivo, como la centrifugación y lisis o el medio en caldo para hongos se pueden utilizar para mejorar la identificación de *H. capsulatum*. La forma de los mohos se asemeja a la de los hongos sapróbicos, razón por la cual la identificación de *H. capsulatum* debe confirmarse con la conversión *in vitro* a la forma de levadura, detección de un antígeno con especificidad de especie, o métodos de PCR para identificar secuencias de DNA específicas.

C. Serología

Los métodos de fijación de complemento para identificar anticuerpos contra histoplasmina o las levaduras se tornan positivos dos a cinco semanas después de la infección. Las concentraciones con dicha técnica aumentan durante la enfermedad progresiva para disminuir a niveles muy pequeños cuando la enfermedad se inactiva. En el caso de la enfermedad progresiva las concentraciones de CF son de 1:32 o mayores. Pueden surgir reacciones cruzadas y por ello sistemáticamente se buscan anticuerpos a otros antígenos de hongos. En la técnica ID, se detectan las precipitinas a dos antígenos específicos de *H. capsulatum:* la presencia de anticuerpos contra el antígeno h suele denotar histoplasmosis activa, en tanto que los que se presentan contra el antígeno m pueden ser producto de la repetición de pruebas cutáneas o exposición en el pasado (cuadro 45-5).

Una de las pruebas más sensibles es un radioanálisis o enzimoinmunoanálisis para antígeno de polisacárido circulante de *H. capsulatum* (cuadro 45-6). Casi todos los pacientes con histoplasmosis diseminada tienen una prueba positiva del antígeno en el suero u orina; la concentración del antígeno es menor después del tratamiento exitoso y se revierte durante una recidiva. A pesar de que se producen reacciones cruzadas con otras micosis, dicha prueba para detectar antígeno es más sensible que los métodos corrientes a base de anticuerpos en personas con sida e histoplasmosis.

D. Prueba cutánea

La prueba cutánea con histoplasmina se torna positiva poco después de la infección y así persiste durante años. Puede tornarse negativa en la histoplasmosis progresiva diseminada. Las pruebas cutáneas repetidas estimulan la producción de anticuerpos séricos en sujetos sensibles; ello interfiere en la interpretación diagnóstica de los métodos serológicos.

Inmunidad

Después de la infección inicial, muchas personas al parecer desarrollan algún grado de inmunidad. La inmunodepresión puede hacer que se reactive y se disemine la enfermedad. Los sujetos con sida pueden presentar histoplasmosis diseminada, sea por reactivación o por una nueva infección.

Tratamiento

La histoplasmosis pulmonar aguda se trata con medidas de apoyo y reposo. El itraconazol es el fármaco de elección en caso de infecciones leves o moderadas. En la enfermedad

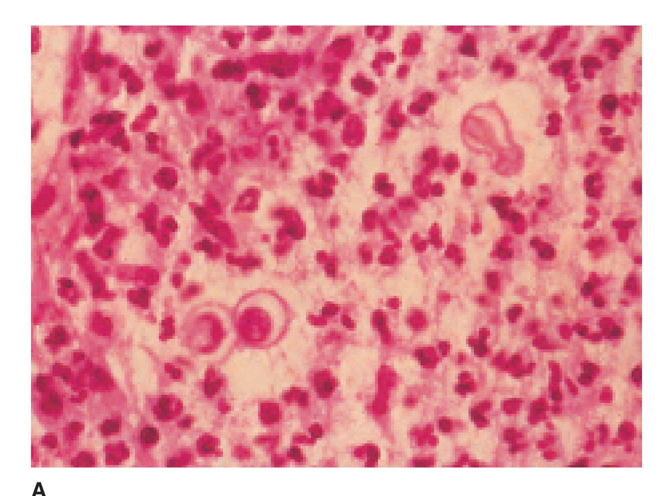
diseminada, por lo común se logra curación con el tratamiento sistémico a base de anfotericina B, aunque puede ser necesario continuarlo por más tiempo y vigilar en caso de recidivas. De modo típico, los enfermos de sida muestran recidiva a pesar del tratamiento que sería curativo en otros pacientes. Por tal razón, tales individuos necesitan tratamiento complementario a base de itraconazol.

Epidemiología y control

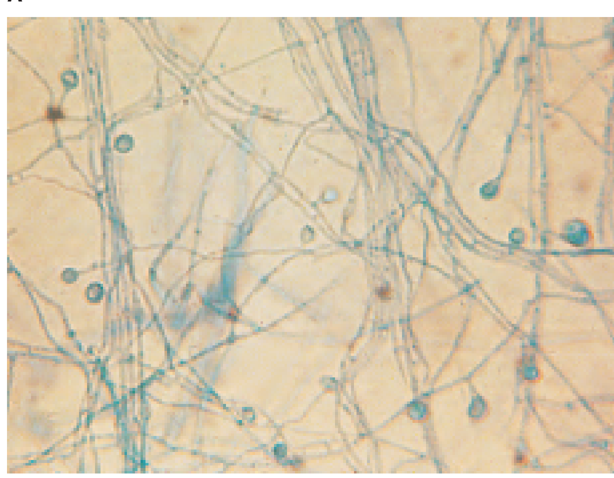
La incidencia de histoplasmosis alcanza su máximo en Estados Unidos, país en que las zonas endémicas incluyen los estados del centro y el este y en particular el Valle del Río Ohio y partes del Valle del Río Mississippi. La exposición de muchas personas a grandes inóculos de conidios ha causado innumerables brotes de histoplasmosis aguda; surgen cuando se altera el hábitat natural de *H. capsulatum,* por ejemplo, la tierra mezclada con heces de pájaros (como las perchas de estorninos o gallineros) o el guano de murciélagos (cuevas). Los pájaros no están infectados, pero el excremento posee características excelentes de cultivo para la proliferación del hongo. Los conidios también son diseminados por el viento y el polvo. El brote urbano de mayor magnitud de histoplasmosis se produjo en Indianápolis.

En algunas zonas altamente endémicas, al comenzar la vida adulta, 80 a 90% de los residentes muestran una prueba cutánea positiva; muchos presentarán calcificaciones miliares de los pulmones. La histoplasmosis no es transmisible de una persona a otra. Rociar formaldehído en la tierra infectada puede destruir a *H. capsulatum*.

En África, además del patógeno corriente se ha identificado una variante estable, *H. capsulatum* var. *duboisii* que origina la histoplasmosis africana; ella difiere de la enfermedad común porque hay menor afección de pulmones y mayor ataque de la piel y lesiones óseas con abundantes células gigantes que contienen las levaduras, que son de mayor tamaño y más esféricas.



A



B

FIGURA 45-20 Blastomicosis y *Blastomyces dermatitidis*. **A:** son notables las levaduras grandes, esféricas y de pared gruesa (8 a 15 μm de diámetro) en este corte de un absceso cutáneo. Hematoxilina y eosina. 400×. **B:** en cultivo a temperatura ambiental *Blastomyces dermatitidis* produce hifas tabicadas hialinas y conidios únicos. 400×.

BLASTOMICOSIS

B. dermatitidis es un hongo dimórfico térmicamente, que prolifera en la forma de moho en cultivo y produce hifas tabicadas ramificadas y hialinas, así como conidios. A 37 °C o en el hospedador, se transforma en una gran levadura de una sola yema (figura 45-20). *B. dermatitidis* causa blastomicosis**,** infección crónica que se manifiesta por lesiones granulomatosas y supuradas, que comienzan en los pulmones; partir de ellos puede diseminarse a cualquier órgano, pero de manera preferente lo hace a la piel y los huesos. La enfermedad ha recibido el nombre de blastomicosis de Norteamérica porque es endémica y en muchos casos surge en Estados Unidos y Canadá. A pesar de la elevada prevalencia en Norteamérica, se ha corroborado la aparición de la enfermedad en África, Sudamérica y Asia. Es endémica en seres humanos y perros en la zona oriental de Estados Unidos.

Morfología e identificación

Cuando se inocula *B. dermatitidis* en agar de Sabouraud a temperatura ambiental, surge una colonia blanca o pardusca con hifas ramificadas que poseen conidios esféricos, ovoides o piriformes (de 3 a 5 μm de diámetro) y conidióforos terminales laterales finos (figura 45-20B). También pueden desarrollarse clamidosporas de mayor tamaño (7 a 18 μm). En tejidos o cultivo a 37 °C el microorganismo prolifera en la forma de una levadura esférica, multinucleada, de pared gruesa (8 a 15 μm) que suele producir yemas individuales (figura 45-20A). La yema y la levadura original están unidas a una base amplia y la primera suele agrandarse hasta alcanzar el mismo tamaño que la levadura original antes de desprenderse. Las colonias de levaduras están arrugadas, son céreas y blandas.

Estructura antigénica

Los extractos de filtrados de cultivo de *B. dermatitidis* contienen **blastomicina**, probablemente una mezcla de antígenos. Tal sustancia, como reactivo en una prueba cutánea, no posee especificidad ni sensibilidad. Los enfermos a menudo presentan negatividad o pierden su reactividad y en personas expuestas a otros hongos se observan reacciones cruzadas positivas

falsas. En consecuencia, no se han realizado encuestas sobre pruebas cutáneas en la población para confirmar el nivel de exposición. La utilidad diagnóstica de la blastomicina como antígeno en el método de CF también es cuestionable, porque son frecuentes las reacciones cruzadas; sin embargo, muchos sujetos con blastomicosis diseminada tienen altas concentraciones de fijación de complemento. En la técnica ID, con uso de antisueros de referencia adsorbidos se detectan a veces anticuerpos a un antígeno específico de *B. dermatitidis*, que se ha denominado antígeno A. Para identificar dicho antígeno es más fiable el enzimoinmunoanálisis (cuadro 45-5). Es probable que el motivo inmunodominante genere una respuesta inmunitaria protectora mediada por células, sea parte de una proteína en la superficie o secretada, llamada BAD.

Patogenia y manifestaciones clínicas

La infección de seres humanos comienza en los pulmones. Se han corroborado casos leves y autorremitentes, pero se desconoce su frecuencia, porque no existe prueba cutánea o serológica adecuada con la cual se valoren las infecciones subclínicas o primarias que mostraron resolución. El cuadro clínico inicial más frecuente es un infiltrado pulmonar que se acompaña de síntomas diversos prácticamente idénticos a los que surgen con otras infecciones agudas de vías respiratorias bajas (fiebre, malestar general, sudaciones nocturnas, tos y mialgias). El cuadro inicial también puede ser de neumonía crónica. El procedimiento histopatológico indica una reacción piogranulomatosa peculiar con neutrófilos y granulomas no gaseosos. Al diseminarse el microorganismo son más frecuentes las lesiones cutáneas en las superficies expuestas; pueden evolucionar y llegar a ser granulomas verrugosos ulcerados con un borde cada vez más incluyente y cicatriz central. El borde está lleno de microabscesos y tiene un límite inclinado y delimitado. También se observan lesiones de huesos, de genitales (próstata, epidídimo y testículos) y del SNC; la frecuencia de ataques suele ser menor en otros sitios. Los enfermos inmunodeprimidos, incluidos los del sida, pueden presentar blastomicosis, pero no es tan frecuente en ellos como sucede con otras micosis sistémicas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras comprenden esputo, pus, exudados, orina, y tejido obtenido de las lesiones, para biopsia. En el estudio microscópico de extensiones húmedas de muestras se identifican a veces yemas adosadas ampliamente en las células de levadura de pared gruesa. Tal estructura se puede identificar en cortes histológicos (figura 45-20A). En los cultivos pueden desarrollarse colonias en término de dos semanas, en agar/sangre enriquecida o medio de Sabouraud a 30 °C (figura 45-20B). La identificación se confirma por la conversión a la forma de levadura después del cultivo en un medio con abundantes nutrientes a 37 °C, por extracción y detección del antígeno A, que es específico de *B. dermatitidis,* o por medio de una sonda de DNA específica. Como se señaló en el cuadro 45-5, es posible medir los anticuerpos por medio de las pruebas fijación de complemento e inmunodifusión. En el EIA, las concentraciones altas de anticuerpos contra el antígeno A se observan en caso de infección pulmonar o diseminada progresiva. De modo global, los métodos serológicos no son tan útiles para el diagnóstico de blastomicosis, como lo serían en otras micosis endémicas.

Tratamiento

Los casos graves de blastomicosis se tratan con anfotericina B. En sujetos con lesiones circunscritas es muy eficaz el itraconazol durante seis meses.

Epidemiología

La blastomicosis es una infección relativamente frecuente de perros (en raras ocasiones de otros animales) en áreas endémicas. El trastorno por lo común no se transmite por los animales ni por las personas. A diferencia de *C. inmitis* y *H. capsulatum, B. dermatitidis* se ha aislado sólo en raras ocasiones del entorno (y sin capacidad de reproducción), de tal forma que no se sabe cuál es su hábitat natural. Sin embargo, el desarrollo de algunos brotes pequeños ha permitido vincular a *B. dermatitidis* con bancos fluviales rurales.

PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

Paracoccidioides brasiliensis es un hongo térmicamente dimorfo que ocasiona la paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana), circunscrita a regiones endémicas de Centro y Sudamérica.

Morfología e identificación

Los cultivos de *P. brasiliensis* en su variedad de moho proliferan con enorme lentitud y producen clamidosporas y conidios. Las características no son peculiares. A 36 °C en un medio con abundantes nutrientes, forma grandes levaduras de múltiples yemas (incluso de 30 μm). Las levaduras tienen tamaño mayor y paredes más delgadas que las de *B. dermatitidis*. Las yemas están unidas por una conexión angosta (figura 45-21).

Patogenia y manifestaciones clínicas

P. brasiliensis penetra en el cuerpo por inhalación; por ello las lesiones iniciales se localizan en los pulmones. Después de un lapso de inactividad que puede durar decenios se activan los granulomas pulmonares con lo cual surge una neumopatía progresiva crónica o diseminación. Muchos enfermos tienen 30 a 60 años y más de 90% son varones. Unos cuantos pacientes (< 10%), en forma típica tienen menos de 30 años y presentan una infección progresiva aguda o subaguda con un periodo de incubación más breve. En el caso corriente de la paracoccidioidomicosis crónica las levaduras se propagan del pulmón a otros órganos, en particular la piel y tejidos mucocutáneos, ganglios linfáticos, bazo, hígado, suprarrenales y otros sitios. Muchos enfermos tienen como cuadro inicial úlceras dolorosas de la mucosa de la boca. En el estudio histológico se advierte por lo común granulomas con una zona de caseificación central o microabsceso. Con frecuencia, las levaduras se observan en células gigantes o de modo directo en el exudado de las lesiones mucocutáneas.

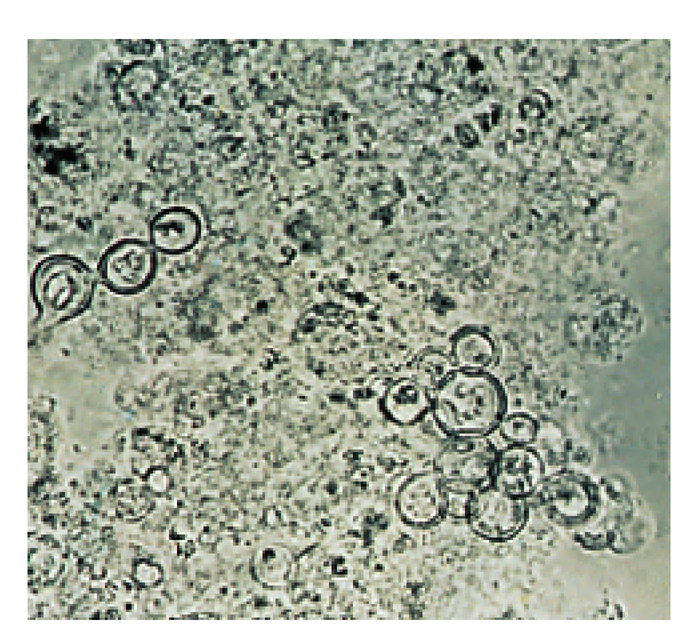


FIGURA 45-21 Paracoccidioidomicosis. Grandes levaduras multigemantes (15-30 μm) se observan en una lesión cutánea. Preparación con KOH. 400×.

Se han realizado pruebas cutáneas con un extracto antigénico, la **paracoccidioidina** que puede mostrar reacción cruzada con la coccidioidina o con la histoplasmina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En el estudio, los exudados, los tejidos de biopsia o el material de las lesiones, se identifican las levaduras en el estudio microscópico directo con KOH o calcoflúor blanco. Los cultivos en el agar de Sabouraud o el agar con extracto de levaduras se cultivan a la temperatura ambiental y el resultado se confirma al observar conversión a la forma de levadura, por proliferación *in vitro* a 36 °C. Los métodos serológicos son los más útiles para el diagnóstico. Los anticuerpos contra la paracoccidioidina se miden por CF o ID (cuadro 45-5). Las personas sanas en áreas endémicas no tienen anticuerpos contra *P. brasiliensis*. En los enfermos, las concentraciones muestran correlación con la intensidad de la enfermedad.

Tratamiento

Al parecer, el itraconazol es el más eficaz contra la paracoccidioidomicosis, pero también lo son el cetoconazol y el trimetoprim-sulfametoxazol. La enfermedad grave puede ser tratada con anfotericina B.

Epidemiología

La paracoccidioidomicosis afecta más bien zonas rurales de Latinoamérica y en ellas en particular a los agricultores. Las manifestaciones del trastorno son mucho más frecuentes en varones que en mujeres, pero por igual en los dos sexos se advierten la infección y la reactividad de las pruebas cutáneas. *P. brasiliensis* rara vez ha sido aislada de la naturaleza, y por ello no se ha definido su hábitat natural. Como ocurre con otras micosis endémicas, esta enfermedad no se transmite de una persona a otra.

CONCEPTOS CLAVE: MICOSIS ENDÉMICAS

1. Las micosis endémicas (coccidioidomicosis, histoplasmosis, blastomicosis y paracoccidiodomicosis) se caracterizan por sus áreas geográficas propias de distribución y por ser causadas por mohos dimórficos ambientales.
2. Más de 90% de las micosis endémicas son inducidas por la inhalación de conidios de los hongos patógenos. En los pulmones, los conidios se transforman en las levaduras características (*Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis* y *Paracoccidioides brasiliensis*) o esférulas (*Coccidioides*).
3. En sus áreas endémicas, los índices de infección por *Coccidioides, H. capsulatum* y *P. brasiliensis* son muy grandes, pero cerca de 90% de las infecciones ocurren en personas con buena función inmunitaria y por ello son asintomáticas o ceden por sí mismas.
4. Las personas con deterioro de las defensas inmunitarias mediadas por células (Th1) tienen un riesgo mucho mayor de presentar enfermedad diseminada (indivíduos inmunodeficientes o con inmunosupresión, seropositivos-VIH, predispuestos en forma congénita, desnutridos, muy jóvenes o muy ancianos).
5. En lo que toca a las cuatro micosis endémicas, la incidencia de enfermedad diseminada es significativamente mayor en varones.
6. Los métodos serológicos para detectar anticuerpos contra hongos endémicos conllevan utilidad diagnóstica y pronóstica.

MICOSIS POR OPORTUNISTAS

Las personas con deterioro de las defensas inmunitarias son susceptibles a la acción de hongos de distribución muy amplia a los cuales están expuestas personas sanas, pero por lo común resisten. En muchos casos, el tipo de hongos y la evolución natural de la micosis son controlados por el estado predisponente básico del hospedador. Como miembros de la microbiota normal de mamíferos, *Candida* y levaduras afines son oportunistas endógenos. Otras micosis por oportunistas son causadas por hongos exógenos que se producen en forma global en la tierra, el agua y el aire. La exposición en este apartado se limitará a los patógenos más comunes y las enfermedades que causan como candidosis, criptococosis, aspergilosis, mucormicosis, neumonía por *Pneumocystis* y penicilliosis. Sin embargo, conforme los avances médicos en trasplante de órganos sólidos y células madre, así como el tratamiento de cáncer y otras enfermedades debilitantes continúen prolongando la vida de pacientes con defensas deterioradas, la incidencia y la lista de especies micóticas que causan micosis oportunistas serias en individuos inmunodeprimidos aumentará. Cada año hay nuevos informes de infecciones causadas por hongos del ambiente que con anterioridad no se consideraban fuente de enfermedad. En pacientes con VIH/sida, la susceptibilidad y la

incidencia de micosis por oportunistas guarda relación inversa con el número de linfocitos CD4⁺. En términos generales, los enfermos de sida y números de leucocitos CD4+ menores de 200 células/ml son altamente susceptibles de infectarse por hongos oportunistas.

CANDIDOSIS

Algunas especies de género *Candida* de levaduras pueden causar candidosis. Son miembros de la microbiota de la piel, las mucosas y el tubo digestivo. Algunas especies de *Candida* establecen colonias de las superficies mucosas de todos los seres humanos poco después del nacimiento, y siempre existe el riesgo de una infección endógena. La candidosis es la micosis sistémica más común y los agentes que con mayor frecuencia la producen son *C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. glabrata, C. guilliermondii* y *C. dubliniensis.* El empleo amplio de fuconazol ha desencadenado la aparición de más especies resistentes a azólicos, como *C. glabrata, C. krusei* y *C. lusitaniae.* Como se indica en el cuadro 45-1, algunas especies de *Candida* causan infecciones cutáneas y sistémicas, y estas manifestaciones clínicas poseen mecanismos diferentes de patogenia. Además se conocen otros tipos de síndromes infecciosos por *Candida.*

Morfología e identificación

En cultivos o en los tejidos, especies de *Candida* proliferan en la forma de levaduras ovales gemantes (3 a 6 μm de diámetro). También forman **seudohifas** cuando las yemas siguen creciendo, pero no se desprenden y así producen cadenas de células alargadas que muestran muescas o constricciones en los tabiques entre las células. A diferencia de otras especies de *Candida, C. albicans* es dimórfica; además de las formas de levadura y seudohifas también produce hifas verdaderas (figura 45-22). En medios de agar o en término de 24 h a 37 °C o a temperatura ambiental, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color crema con un olor a levadura. Las seudohifas se caracterizan por proliferar en un plano por debajo de la superficie del agar. Dos técnicas morfológicas sencillas permiten diferenciar *C. albicans,* que es el patógeno más frecuente, de otras especies de *Candida:* después de incubación en suero durante unos 90 min a 37 °C, las levaduras de *C. albicans* comienzan a formar hifas verdaderas o tubos germinativos (figura 45-23); en medios con deficiencia de nutrientes *C. albicans* produce grandes clamidosporas esféricas. Se pueden utilizar la fermentación en azúcar y métodos de asimilación y definir la especie de las *Candidas* más comunes, como *C. tropicalis, C. parapsilosis, C. guilliermondii, C. kefyr, C. krusei* y *C. lusitaniae. C. glabrata* es única entre dichos patógenos debido a que en medios de cultivo habituales produce sólo células de levadura y no seudohifas.

Estructura antigénica

Por medio de antisueros adsorbidos se han podido definir dos serotipos de *C. albicans*: A (que incluye *C. tropicalis*) y B. Durante la infección se liberan componentes parietales como mananos, glucanos, y otros polisacáridos y glucoproteínas, además de enzimas; tales macromoléculas típicamente activan las defensas innatas del hospedador y las respuestas inmunitarias por Th1, Th17 y Th2. Por ejemplo, el suero de sujetos con candidosis sistémica suele contener anticuerpos detectables contra la enolasa de candida, proteasas secretoras y proteínas de choque calórico.



FIGURA 45-22 *Candida albicans*. Se observan levaduras gemantes (blastoconidios), hifas y seudohifas. 400×.

Patogenia y anatomía patológica

La candidosis superficial (**cutánea** o de **mucosas**) surge por un incremento en el número local de células de *Candida* y daño de la piel o del epitelio, que permite la invasión local por las levaduras y por la seudohifas. La histología de lesiones cutáneas o mucocutáneas se caracteriza por respuestas inflamatorias que varían desde absceso piógeno hasta granulomas crónicos. Las lesiones contienen abundantes células de levadura en gemación y seudohifas. Los antibacterianos de amplio espectro a menudo impulsan aumentos grandes de la población endógena de *Candida* en el tubo digestivo, así como en las mucosas oral y vaginal. La candidosis **sistémica** se presenta cuando *Candida* entra al torrente sanguíneo y las defensas del hospedador innatas fagocíticas son inadecuadas para contener el crecimiento y diseminación de las levaduras. Éstas pueden entrar al torrente sanguíneo al atravesar la mucosa intestinal. Muchos casos hospitalarios los causa contaminación con *Candida* de sondas intravenosas permanentes. Una vez en el torrente, *Candida* puede infectar riñones, atacar válvulas cardiacas prostéticas



FIGURA 45-23 Tubo germinativo. A diferencia de otras especies de *Candida, Candida albicans* produce hifas verdaderas, levaduras gemantes y seudohifas. Después de incubación en suero a 37 °C durante 60 a 90 min en el laboratorio, *Candida albicans* obtenidas de personas, son estimuladas para formar hifas, proceso iniciado con la generación de tubos germinativos con estructuras más finas y más uniformes que las seudohifas. (figura 45-22.) 1 000×.

o producir infecciones casi en cualquier sitio (p. ej., artritis, meningitis, endoftalmitis). La defensa crítica del hospedador contra candidosis sistémica está determinada por un número adecuado de neutrófilos funcionales capaces de ingerir y lisar las células de levadura.

Como se mencionó antes, *Candida* elabora polisacáridos, proteínas y glucoproteínas que además de estimular las defensas del hospedador facilitan el acoplamiento y la invasión de sus células. *Candida albicans* y otras especies de *Candida,* producen una familia de glucoproteínas superficiales con una secuencia similar a la de la aglutinina (ALS, *agglutinin-like sequence*); de ellas algunas son adhesinas que se unen a receptores del hospedador y median la adherencia a células epiteliales o endoteliales. Los mecanismos innatos de defensa del hospedador incluyen receptores de reconocimiento de perfiles (como lectinas, receptores de tipo Toll, receptor de manosa de macrófagos) que se unen a los perfiles moleculares propios del patógeno. Un ejemplo fundamental es la leptina de células del hospedador llamada dectina-1 que se une a β-1,3 glucano y *C. albicans* y otros hongos para estimular una respuesta inflamatoria consistente; tal respuesta se caracteriza por la producción de citocinas, en particular factor-α de necrosis tumoral, interferon-γ y factor estimulante de colonias de granulocitos, que activan las células efectoras antimicóticas, neutrófilos y monocitos. Además, la unión de β-glucano a la dectina 1 en células dendríticas induce la actividad de linfocitos Th17 que secretan interleucina-17. Los linfocitos de este tipo difieren de los linfocitos T y B; se activan por mecanismos innatos de defensa, por lo común de mucosas, y también por respuesta inmunitarias adaptativas.

Además de la familia de ocho genes de adhesión de ALS, en *C. albicans* y otras especies de *Candida* se han identificado muchos otros factores de virulencia; éstos incluyen 10 aspartilproteinasas secretadas (SAP) que tienen la capacidad de degradar membranas de la célula hospedadora y destruir inmunoglobulinas. Otro factor de virulencia es la fosfolipasa (PLB1), la cual es secretada por levaduras y seudohifas. Además, en una variedad de superficies biológicas y prostéticas, la acumulación de levaduras y seudohifas forma biopelículas con facilidad. La biopelícula micótica está protegida por material de matriz extracelular que resiste la penetración por respuestas inmunitarias, además de antimicóticos.

Manifestaciones clínicas

A. Candidosis cutánea y de mucosas

Los factores de riesgo para que surja candidosis superficial comprenden sida, embarazo, diabetes, lactantes o ancianos, píldoras anticonceptivas y traumatismos (quemaduras, maceración de la piel). La **candidosis bucofaríngea** se presenta en la lengua, los labios, las encías o el paladar blando. Es irregular y también puede presentar lesiones seudomembranosas blanquecinas y confluentes compuestas de células epiteliales, levaduras y seudohifas, las cuales pueden resultar en la formación de una biopelícula intratable. La candidosis bucofaríngea se produce en casi todos los enfermos de sida. Otros factores de riesgo comprenden la corticoterapia o la antibioticoterapia, hiperglucemia e inmunodeficiencia mediada por células. La invasión de la mucosa vaginal por levaduras origina **vulvovaginitis** que se caracteriza por irritación, prurito y secreción vaginal; antes de que surja tal cuadro a veces actúan factores como diabetes, embarazo o administración de antibacterianos que alteran la microbiota, el pH ácido local o secreciones. Otras formas de candidosis cutánea incluyen invasión de la piel, que tiene lugar cuando ésta se debilita por traumatismo, quemaduras o maceración. La infección intertriginosa se presenta en partes corporales húmedas tibias, por ejemplo axilas, ingle o interglúteos o pliegues inflamamarios; es más común en obesos y diabéticos. Antes que en los recién nacidos se establezca un microbioma equilibrado, son susceptibles a exantema amplio en la zona del pañal e infección por *Candida*. Las zonas infectadas se tornan rojas y húmedas; en ellas pueden surgir vesículas. La afección en el espacio interdigital se presenta después de la inmersión prolongada y repetida en agua y es más frecuente en amas de casa, cantineros, cocineros y personas que manipulan verduras y pescado. La invasión de las uñas y alrededor de la placa ungueal por *Candida* origina **onicomicosis** que es una hinchazón dolorosa y eritematosa del pliegue ungueal que se asemeja a la paroniquia piógena y al final puede destruir la uña.

B. Candidosis sistémica

La candidemia puede ser causada por catéteres o sondas permanentes, cirugías, abuso de drogas intravenosas, broncoaspiración o daño de la piel o del tubo digestivo. En la mayoría de los pacientes con respuestas imunitarias innatas normales

y neutrófilos circulantes, las levaduras se eliminan y la candidemia es pasajera. Sin embargo, en sujetos con deficiencia innata de fagocitos, como células de defensa, pueden surgir en cualquier sitio lesiones ocultas, en particular en riñones, piel (lesiones macronodulares), ojos, corazón y meninges. La candidosis sistémica surge más a menudo con la administración a largo plazo de corticosteroides y otros inmunodepresores; en caso de enfermedades hematológicas como leucemia, linfoma y anemia aplásica, y en enfermedad granulomatosa crónica. La endocarditis por *Candida* suele acompañar al depósito y la proliferación de las levaduras y las seudohifas en prótesis valvulares del corazón o vegetaciones y la formación de biopelículas resistentes. Las infecciones renales suelen ser una manifestación de índole general, en tanto que las de vías urinarias suelen desarrollarse con factores como sondas de Foley, diabetes, embarazo y antibióticos antibacterianos.

C. Candidosis mucocutánea crónica

La candidosis mucocutánea crónica (CMC, *chronic mucocutaneous candidiosis*) es una manifestación clínica distintiva que se carateriza por la formación de lesiones granulomatosas por cándida en cualquiera o todas las superficies cutáneas, mucosas o ambas. Hay varias clasificaciones de CMC basadas en la edad de inicio, endocrinopatía, predisposición genética y estado inmunitario. Las formas más comunes se presentan al inicio de la niñez y están relacionadas con autoinmunidad e hipoparatiroidismo. Los pacientes pueden desarrollar lesiones crónicas, salientes y costrosas muy queratíticas que deforman la piel, mucosa de la boca y piel cabelluda. Muchos pacientes de candidosis mucocutánea crónica no desencadenan una respuesta eficaz de linfocitos Th17 contra *Candida*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las muestras comprenden el material obtenido con aplicadores y raspaduras de lesiones superficiales, sangre, LCR, tejidos para biopsia, orina, exudados y material de los catéteres intravenosos extraídos.

El tejido de biopsia, el LCR centrifugado y otras muestras se examinan en muestras teñidas por la técnica de Gram o laminillas histopatológicas en busca de seudohifas y células gemantes (figura 45-24). Como sucede con las dermatofitosis, en primer lugar las raspaduras de piel o uñas se colocan en una laminilla a la que se agrega una gota de KOH al 10% (KOH) y calcoflúor blanco.

B. Cultivo

Todas las muestras se cultivan en medios para hongos o bacterias, a temperatura ambiental o a 37 °C. Las colonias de levaduras se estudian en busca de seudohifas (figura 45-22). *C. albicans* se identifica por la producción de tubos germinativos (figura 45-23) o clamidosporas. Otras poblaciones aisladas de levadura son fenotípicamente específicas por uso de cualquiera de varios equipos comerciales para probar la asimilación metabólica de una batería de sustratos orgánicos. Existen medios comerciales útiles para la identificación rápida de varias especies de *Candida*; éstos se basan en acividad enzimática del hongo en sustratos cromógenos en el medio. Después de la incubación por uno a cuatro días en tales medios, las colonias de *C. albicans* se tornan de color verde, *C. tropicalis* de azul, *C. glabrata* de púrpura oscuro y *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. guillermondii* y *C. krusei* de tonalidad rosada.

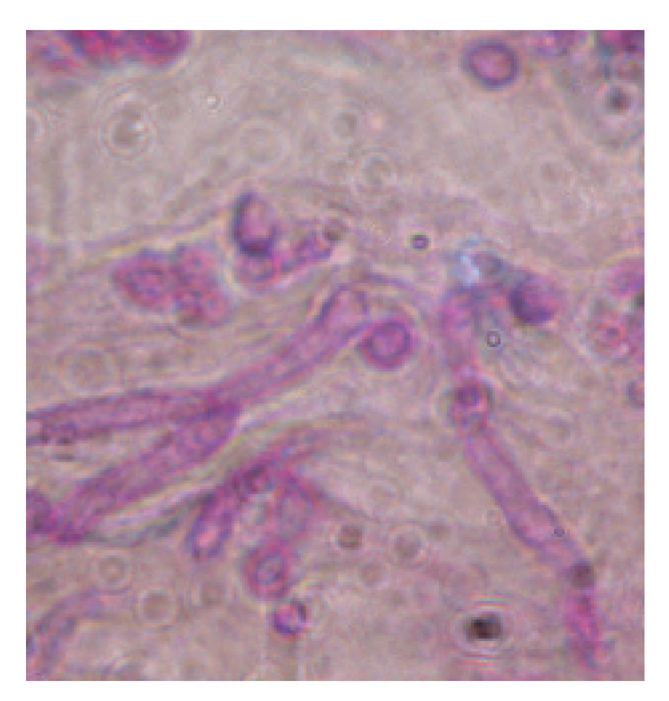


FIGURA 45-24 Candidosis. Levaduras y seudohifas en tejidos, teñidas con PAS. 1 000×.

La interpretación de cultivos positivos varía con la muestra. Todo cultivo positivo de sitios corporales por lo demás estériles es importante. El valor diagnóstico de un cultivo cuantitativo de orina depende de la integridad de la muestra y la cantidad y tipo de levadura. Las sondas de Foley contaminadas pueden resultar en cultivos urinarios positivos falsos. Los hemocultivos positivos pueden reflejar candidosis sistémica o candidemia pasajera debido a un tubo intravenoso contaminado. Los cultivos de esputo no tienen valor debido a que las especies de *Candida* son parte de la microbiota de la boca. Los cultivos de lesiones cutáneas son confirmatorios y distinguen entre candidosis cutánea y dermatofitosis u otra infección.

C. Métodos moleculares

En muchos laboratorios, los hemocultivos para *Candida* se amplifican por PCR de tiempo real con cebadores específicos de especie, los cuales por lo común se diseñan de secuencias de genes de DNA ribosómicos de copias múltiples. La especificidad de las pruebas de DNA para candidemia es excelente, pero la respuesta puede verse afectada por una cifra baja de células de levadura en la muestra de sangre. Un problema fundamental es el método utilizado para extraer el DNA de células de levadura, así como eliminar la inhibición de la PCR por DNA y hemoglobina en personas. La prueba molecular ideal detectaría candidemia de forma oportuna en el curso de infección antes que las levaduras hayan desarrollado infección crónica en los riñones y otros órganos, cuando los hemocultivos suelen ser negativos.

La identificación definitiva de los cultivos de levadura, en especial especies diferentes de *C. albicans,* a menudo consume

varios días. Con su facilidad para preparar la muestra y su automatización, MALDI-TOF-MS se ha convertido en un método popular de rápida identificación, tanto de especies de *Candida*, como de otros hongos y bacterias patógenos.

D. Serología

Los anticuerpos séricos y la inmunidad mediada por células se pueden demostrar en muchas personas como consecuencia de una exposición duradera a *Candida*. En la candidosis sistémica, puede haber incremento de los anticuerpos a diversos antígenos de *Candida*, pero no existen criterios nítidos para corroborar el diagnóstico por métodos serológicos. La detección del manano parietal circulante por medio de una prueba de aglutinación con látex o un enzimoinmunoanálisis es mucho más específica, pero dicho método no tiene sensibilidad, porque muchos pacientes muestran positividad transitoria o no generan concentraciones de anticuerpos importantes y detectables, hasta etapas finales de la enfermedad. Sin embargo, una prueba positiva puede ser de gran utilidad (cuadro 45-6). La prueba bioquímica de glucano β-(1,3)-D, descrita antes, se ha convertido en la de mayor uso para tamizar fungemia en pacienes que a menudo tienen hemocultivos negativos. Aunque la prueba no es específica para *Candida*, la mayoría de pacientes con una infección micótica invasiva tienen concentraciones de glucano β más altas que 80 pg/ml. Las concentraciones normales son 10 a 40 pg/ml.

Inmunidad

La base de la resistencia a la candidosis es compleja y no se comprende del todo. Las respuestas inmunitarias, en especial de neutrófilos circulantes, son determinantes para la resistencia a candidosis sistémica. Varios antígenos de polisacárido de *Candida* son reconocidos por receptores de reconocimiento de tipo de hospedador (PRR, *pattern recognition receptors*), por ejemplo dectina-1, que se une a glucano β-(1,3) y manano β-(1,2), el cual se une al receptor TLR-4. Como se observó, las respuestas inmunitarias mediadas por célula son importantes para control de la candidosis mucosa. La estimulación de linfocitos específicos Th17 dispara una cascada de citosinas que activa macrófagos, inflamación e impulsa la actividad fagocítica.

Tratamiento

La candidosis bucofaríngea y otras formas mucocutáneas de candidosis suelen ser tratadas con nistatina tópica, o con cetoconazol o fluconazol orales. Las lesiones cutáneas desaparecen con mayor rapidez si se eliminan los factores contribuyentes como la humedad excesiva o el consumo de antibacterianos. La forma sistémica o generalizada se trata con anfotericina B, a veces con flucitosina, fluconazol o caspofungina orales. La candidosis mucocutánea crónica mejora de forma satisfactoria con el cetoconazol oral y otros azólicos, pero algunos pacientes tienen un defecto genético de tipo celular en su inmunidad y necesitan tratamiento permanente.

Suele ser difícil definir el diagnóstico inmediato de la candidosis sistémica, porque los signos clínicos no son definitivos y los cultivos arrojan resultados negativos. Además, no existe un régimen profiláctico definido para sujetos en peligro, aunque suele estar indicado el tratamiento con un azólico o con un ciclo breve de anfotericina B en dosis pequeñas en enfermos febriles o debilitados inmunodeficientes y que no mejoran con el tratamiento antibacteriano (ver adelante).

Epidemiología y control

La medida preventiva de mayor importancia es evitar la perturbación del equilibrio normal de la microbiota de defensas intactas del hospedador. La candidosis no es transmisible, porque prácticamente todas las personas poseen tales microorganismos dentro de su flora. Sin embargo, estudios epidemiológicos moleculares han corroborado brotes causados por la transmisión nosocomial de cepas particulares, a pacientes susceptibles (por ejemplo leucémicos, recién nacidos o pacientes atendidos en la unidad de cuidados intensivos). Las especies de *Candida* constituyen el hemocultivo aislado más común; la mortalidad atribuible es de 30 a 40 por ciento.

CRIPTOCOCOSIS

Cryptococcus neoformans y *Cryptococcus gattii* son levaduras basidiomicetas ambientales. A diferencia de otros hongos patógenos, dichas levaduras poseen grandes cápsulas de polisacáridos (figura 45-25). *Cryptococcus neoformans* está distribuido en la naturaleza a nivel mundial y se le aísla con facilidad de las heces secas de palomas, así como de árboles, tierra y otros sitios. *C. gattii* es menos frecuente y en forma típica está en árboles en áreas tropicales. Las dos especies originan criptococosis, que se produce después de inhalar levaduras secas y posiblemente basidiosporas de mayor tamaño. Desde los pulmones dichas levaduras neurotrópicas típicamente terminan en el SNC, en donde causan meningoencefalitis (figura 45-26). Sin embargo, también son capaces de infectar otros órganos (como piel, ojos o próstata). *C. neoformans* se presenta en personas inmunocompetentes, pero la hace con mayor frecuencia en enfermos de VIH/sida, cánceres hematógenos y otros cuadros inmunosupresores. La criptococosis por *C. gattii* es más rara y por lo común surge en hospedadores aparentemente sanos. De

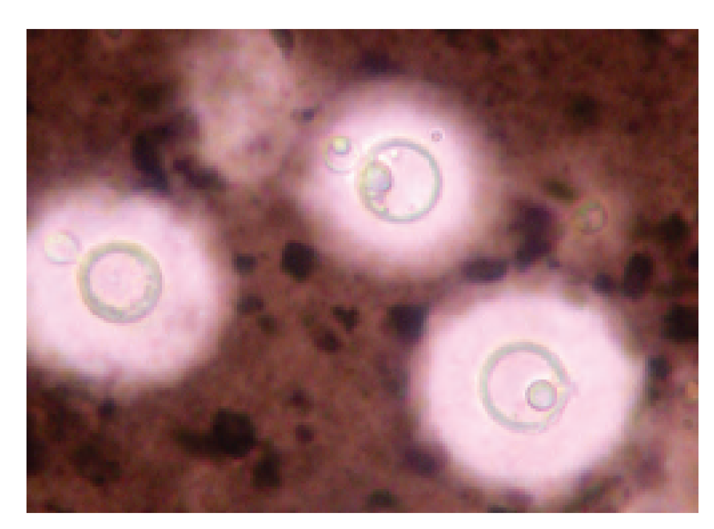


FIGURA 45-25 Criptococosis. En esta muestra obtenida por lavado pulmonar se advierte netamente la cápsula de *Cryptococus neoformans*. Tinción de Giemsa. 1 000×.

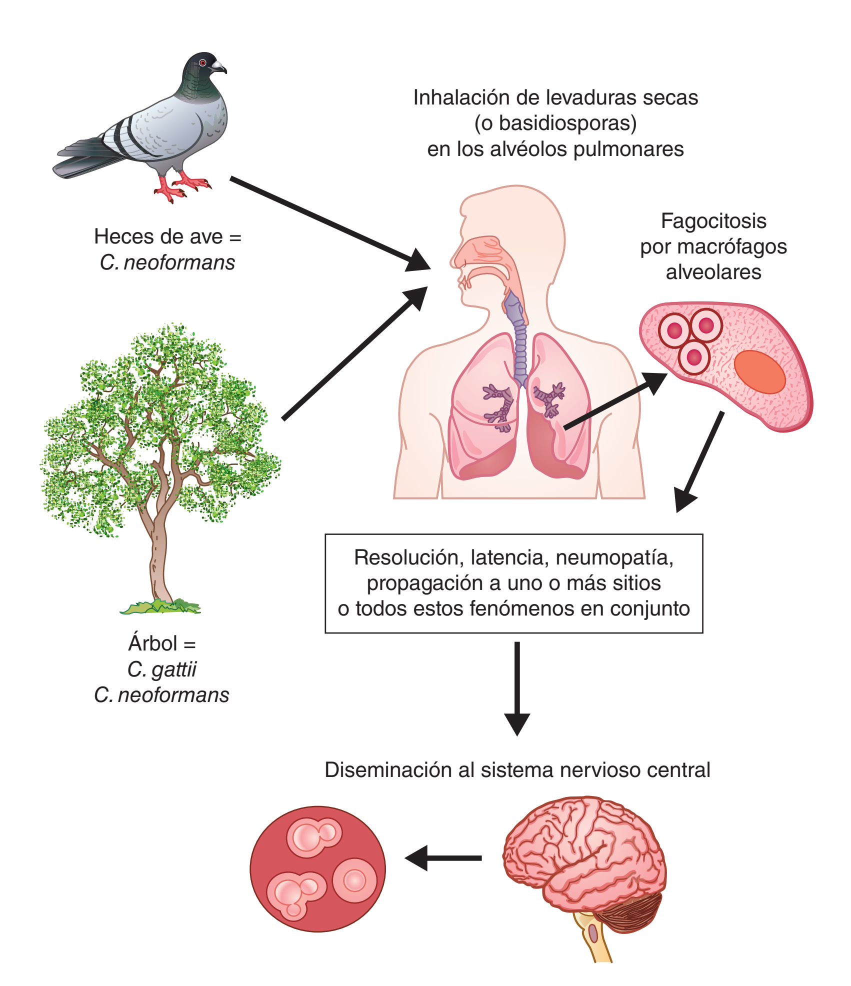


FIGURA 45-26 Evolución natural de la criptococosis. (Reproducida con autorización de Heitman J. Kozel TR; Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A [editors]: *Cyptococcus. From Human Pathogen to Model Yeast*. Washington, DC, ASM Press, 2011, figura 1, p. 238. ©2011 American Society for Microbiology. No está permitida la reproducción adicional o distribución sin autorización escrita previa de American Society for Microbiology.)

forma global, cada año surgen un millón de nuevos casos de criptococosis y su mortalidad se acerca a 50%. Más de 90% de dichas infecciones se producen por *C. neoformans*. A pesar de que *C. gattii* tiene una prevalencia global menor en lo que toca al último decenio, se advirtió un brote cada vez más amplio de infecciones por dicha especie en los estados del noroeste de la costa del Pacífico en Estados Unidos.

Morfología e identificación

En cultivos, las especies de *Criptococcus* producen colonias blanquecinas mucoides en término de dos a tres días. En el estudio microscópico del cultivo o material clínico, las esferas en gemación (5 a 10 um de diámetro) están rodeadas por una cápsula gruesa que no capta colorantes (figura 45-25). Todas las especies de *Cryptococcus*, incluidas algunas no patógenas, están encapsuladas y poseen ureasa. Sin embargo, *C. neoformans* y *C. gattii* difieren de especies no patógenas porque pueden proliferar a 37 °C, además de producir laccasa, una fenol oxidasa, que cataliza la formación de melanina a partir de sustratos fenólicos apropiados (como las catecolaminas). La cápsula y la laccasa son factores perfectamente definidos de virulencia. Los microorganismos que afectan seres humanos se identifican al demostrar que producen laccasa o por características específicas de asimilaciones de carbohidratos. Por medio de antisueros adsorbidos se han definido cinco serotipos (A-D y AD); algunas cepas de *C. neoformans* pueden tener lo serotipos A, D o AD y algunos aislados de *C. gattii* pueden tener los serotipos B o C. Además de sus serotipos capsulares, las dos especies muestran diferencias en sus genotipos, en sus aspectos ecológicos, algunas reacciones químicas y manifestaciones clínicas. Es posible demostrar en el laboratorio la reproducción sexual; el apareamiento adecuado origina la producción de micelios y basidiosporas; las especies teleomórficas correspondientes de las dos especies teleomórficas son *Filobasidiella neoformans* y *F. bacillispora*.

Estructura antigénica

Los polisacáridos capsulares, independientemente del serotipo, poseen una estructura similar: son polímeros largos sin ramificaciones que consisten en un esqueleto de polimanosa con uniones α-1,3 y ramas monoméricas con uniones β de xilosa y ácido glucurónico. En la infección, el polisacárido capsular (o glucuronoxilomanano [GXM, *glucuronoxylomannan*]) es solubilizado en el LCR, el suero o la orina y se le detecta por medio de un enzimoinmunoanálisis o por aglutinación de las partículas de látex recubiertas de anticuerpos contra

el polisacárido. Con grupos testigo apropiados los resultados del estudio en cuestión permiten diagnosticar criptococosis. También es posible medir los anticuerpos del paciente contra la cápsula, aunque no se utiliza en el diagnóstico.

Patogenia

La infección es iniciada por la inhalación de las levaduras, que en la naturaleza están secas, con mínima cápsula y que se pueden dispersar fácilmente en aerosol. La infección pulmonar primaria puede ser asintomática o remedar un cuadro de infección respiratoria similar a la gripe que suele ceder de manera espontánea. En individuos inmunodeficientes las levaduras pueden multiplicarse y diseminarse a otras zonas del cuerpo, pero se dirigen preferentemente al SNC, en el cual ocasionan meningoencefalitis por criptococos (figura 45-26). Otros sitios de diseminación frecuente son la piel, las suprarrenales, los huesos, los ojos y la próstata. La reacción inflamatoria suele ser mínima o de tipo granulomatoso.

Manifestaciones clínicas

La principal manifestación clínica es la meningitis crónica que puede remedar trastornos como tumor o abscesos cerebrales, o una enfermedad degenerativa del SNC o cualquier meningitis por micobacterias u hongos. Pueden aumentar la presión y el nivel de proteínas del LCR y también el número de células en él, en tanto que su nivel de glucosa es normal o menor. El paciente puede presentar cefalea, rigidez del cuello y desorientación. Además, es posible que se produzcan lesiones de piel, pulmones u otros órganos.

La evolución de la meningitis por criptococos puede fluctuar durante periodos largos; sin tratamiento todos los casos al final son letales. En forma global, en promedio, 5 a 58% de los pacientes de sida terminan por mostrar meningitis por criptococos. La infección no se transmite entre personas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras, examen microscópico y cultivo

Las muestras por lo común son de LCR, tejidos, exudados, esputo, sangre, raspaduras de piel y orina. El LCR es centrifugado antes de su estudio microscópico y cultivo. En el caso de la microscopia directa, las muestras por lo común se examinan en preparados húmedos, en forma directa, y después de mezclarlas con tinta china, con la cual se delinea la cápsula (figura 45-25).

Las colonias se desarrollan en término de unos cuantos días en casi todos los medios, a temperatura ambiental o a 37 °C. Es importante no usar medios con cicloheximida porque inhiben el crecimiento de *Cryptococcus*. Los cultivos se identifican por proliferación del criptococo a 37 °C y la detección de ureasa. Como otra posibilidad, con un substrato difenólico apropiado, la fenol oxidasa (o laccasa) de *C. neoformans* y *C. gattii* produce melanina en las paredes del microorganismo y las colonias adquieren un pigmento pardo.

B. Serología

Es posible realizar métodos para detectar antígeno capsular en LCR, suero y orina. Los métodos de aglutinación de látex en laminilla o el de enzimoinmunoanálisis para detectar el antígeno criptococócico arrojan resultados positivos en 90% de personas con meningitis por criptococos. Con el tratamiento eficaz, la concentración del antígeno disminuye (excepto en pacientes de sida que suelen tener concentraciones altas del antígeno por largo tiempo) (cuadro 45-6). La prueba más novedosas para GXM es un análisis de flujo lateral (LFA, *lateral flow assay*), en el cual los anticuerpos monoclonales contra GXM se preparan en un formato de enzimoinmunoanálisis sobre una tira que puede colocarse en suero, LCR u orina y produce un cambo positivo de color de prueba en plazo de 20 min. La prueba de LFA se ha utilizado de manera extensa como un tamizado de análisis de diagnóstico inmediato para criptococosis en África subsahariana.

Tratamiento

Se considera que la combinación de anfotericina B y flucitosina constituye el tratamiento corriente de la meningitis por criptococos, aunque no hay certidumbre del beneficio de agregar flucitosina. La anfotericina B (con flucitosina o sin ella) tiene capacidad curativa en muchos pacientes que no tienen sida. Los enfermos de sida tratados de manera inadecuada casi siempre mostrarán recidiva cuando se interrumpa el uso de anfotericina B y necesitarán fármacos supresores como el fluconazol que penetra muy bien en el sistema nervioso central.

Los pacientes de VIH/sida tratados con antirretrovirales de alta actividad (HAART, *highly active antirretroviral therapy*) muestran una menor incidencia de criptococosis y tienen un pronóstico mucho mejor. Por desgracia, incluso 33% de sujetos con sida tratados con HAART con meningitis por criptococos terminan por mostrar el llamado **síndrome inflamatorio de reconstitución inmunitaria** (IRIS, *immune reconstitution inflammatory syndrome*) que exacerba en gran medida la enfermedad. El diagnóstico, la patogenia y el tratamiento de IRIS son problemáticos. IRIS, además de causar una recidiva paradójica de la criptococosis puede "desenmascarar" la criptococosis no diagnosticada. IRIS también se presenta en pacientes de sida con tuberculosis y otras infecciones crónicas.

Epidemiología y aspectos ecológicos

El excremento de aves (en particular palomas) induce la proliferación de *C. neoformans* y constituye un reservorio de la infección. El microorganismo prolifera abundantemente en la excreta de paloma, pero tales aves no se infectan. Además de personas con sida o neoplasias malignas, los individuos sometidos a corticoterapia son muy susceptibles de presentar criptococosis. En países subsaharianos de África, el epicentro de VIH-sida, *C. neoformans* es la causa principal de meningitis; se calcula que cada año hay un millón de casos nuevos, con 600 000 muertes atribuibles.

La mayor parte de los casos globales de la enfermedad es causada por *C. neoformans* (serotipo A). Sin embargo, en la zona del noroeste de la costa del Pacífico en Estados Unidos ha surgido *C. gattii*, especie normalmente tropical, y en esa zona se le ha identificado en algunas especies locales de árboles, tierra y agua. Desde el año 2000, casos en personas y animales se han ampliado desde la Isla de Vancouver a zonas de tierra firme de la Columbia Británica, Washington, Oregon, California y Idaho.

ASPERGILOSIS

La aspergilosis comprende un conjunto de enfermedades que pueden ser causadas por diversas especies de *Aspergillus*, que son saprofitas de distribución muy amplia en la naturaleza; por ello la enfermedad se produce a nivel mundial. Para los seres humanos el patógeno más frecuente es *A. fumigatus*, pero pueden causar enfermedad otros más como *A. flavus, A. niger, A. terreus* y *A. lentulus*. El moho en cuestión produce abundantes conidios pequeños que pueden ser dispersados con fácilidad en el aire (por aerosol). Después de inhalarlos los sujetos atópicos suelen presentar grandes reacciones alérgicas a los antígenos de esas estructuras. En pacientes inmunodeficientes, en particular los que tienen leucemia, quienes han recibido trasplante de células madre y los que reciben corticosteroides, los conidios pueden germinar para producir hifas que invaden los pulmones y otros tejidos.

Morfología e identificación

Las especies de *Aspergillus* proliferan con rápidez; producen hifas aéreas que poseen las estructuras características de los conidios: conidióforos largos con vesículas terminales en los cuales las fialidas producen cadenas basipetales de conidios (figura 45-6). Las especies se identifican con base en las diferencias morfológicas de tales estructuras, que incluyen el tamaño, la forma, la textura y el color de los conidios.

Patogenia

En los pulmones los macrófagos alveolares pueden fagocitar y destruir los conidios. Sin embargo, en el caso de animales sometidos a corticoterapia o enfermos inmunodeprimidos, las células mencionadas muestran una menor capacidad de engullir el inóculo. En los pulmones, los conidios se hinchan y germinan hasta producir hifas que tienden a invadir cavidades preexistentes (aspergiloma o bola fungosa) o vasos sanguíneos.

Manifestaciones clínicas

A. Formas de alergia

En algunas personas atópicas el desarrollo de anticuerpos de tipo IgE contra los antígenos superficiales de los conidios de *Aspergillus* desencadena inmediatamente una reacción asmática en la nueva exposición. En otros, los conidios germinan y las hifas colonizan el árbol bronquial sin invadir el parénquima pulmonar, fenómeno que es característico de la **aspergilosis broncopulmonar alérgica**, que se define clínicamente por cuadros como asma, infiltrados pulmonares recurrentes, eosinofilia y los dos tipos de hipersensibilidad cutánea I (inmediata) y III (de Arthus) contra el antígeno de *Aspergillus*. Muchos enfermos generan esputo con *Aspergillus* y precipitinas séricas; muestran dificultad para respirar y también presentan cicatrices pulmonares permanentes. Los hospedadores sanos expuestos a dosis masivas de conidios pueden presentar **alveolitis alérgica extrínseca**.

B. Aspergiloma y colonización extrapulmonar

Surge un aspergiloma cuando los conidios inhalados penetran en alguna cavidad existente, y en ella germinan y producen abundantes hifas en ese espacio pulmonar anormal. Los enfermos con alguna enfermedad cavitaria (como tuberculosis, sarcoidosis o enfisema) están en peligro. Algunos enfermos son asintomáticos, en tanto que otros terminan por mostrar tos, disnea, pérdida de peso, fatiga y hemoptisis. Los casos de aspergiloma rara vez se tornan invasores. Las infecciones localizadas no invasoras (colonización) por especies de *Aspergillus* pueden afectar los senos paranasales, el conducto auditivo, la córnea o las uñas.

C. Aspergilosis invasora

Después de que los conidios son inhalados y germinan se produce enfermedad invasora en la forma de un cuadro neumónico agudo con diseminación. Los sujetos en riesgo son los que tienen leucemia linfocitica o mielógena y linfoma, quienes han recibido trasplante de células madre, y en particular, los individuos sometidos a corticoterapia. El riesgo es mucho mayor en individuos que han recibido alotrasplante de células madre hemapoyéticas s (y no autólogas). Además, están predispuestos a la aspergilosis invasora los pacientes de sida con un número de linfocitos CD4 menor de 50 células/milímetro cúbico. Los síntomas incluyen fiebre, tos, disnea y hemoptisis. Las hifas invaden el interior y las paredes de los vasos sanguíneos y originan trombosis, infarto y necrosis. Desde los pulmones la enfermedad puede propagarse al tubo digestivo, los riñones, el hígado, el cerebro u otros órganos, y producir abscesos y lesiones necróticas. Si no se emprende con rapidez el tratamiento, el pronóstico de personas con aspergilosis invasora es grave. Los individuos con una enfermedad primaria que deteriora con menor intensidad sus defensas pueden al final presentar aspergilosis pulmonar necrosante crónica, que es un cuadro menos grave.

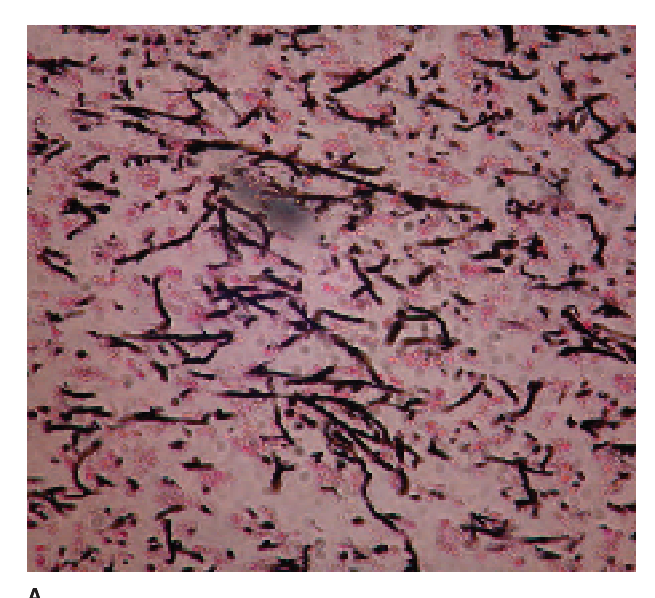
Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras, examen microscópico y cultivo

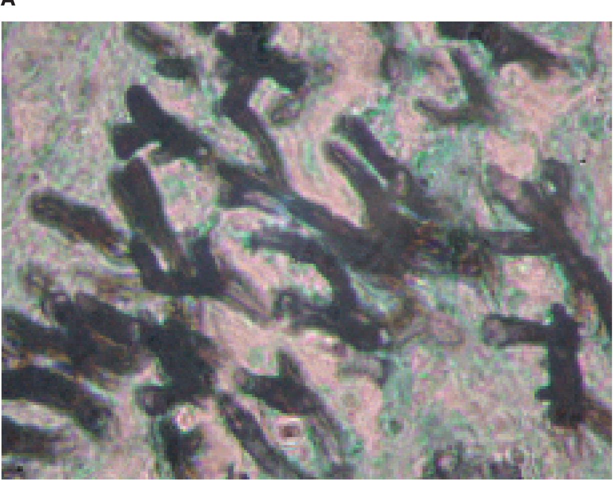
El esputo, otras muestras de vías respiratorias y tejido pulmonar para biopsia constituyen muestras adecuadas. Las muestras de sangre rara vez son positivas. En el examen directo del esputo con KOH o con calcoflúor blanco o en cortes histológicos, las hifas de especies de *Aspergillus* son hialinas, tabicadas y de ancho uniforme (en promedio, 4 μm), y sus ramificaciones son dicotómicas (figura 45-27). Las especies de *Aspergillus* proliferan en término de días en casi todos los medios a temperatura ambiental. Las especies en cuestión se identifican con base en la morfología de la estructura de sus conidios (figura 45-6).

B. Serología

El método intradérmico para identificar precipitinas contra *A. fumigatus* es positivo en más de 80% de personas con aspergiloma o formas alérgicas de la aspergilosis, pero las técnicas a base de anticuerpos no son útiles en el diagnóstico de aspergilosis invasora; en esta última se confirma el diagnóstico con el método serológico para detectar galactomanano parietal circulante, aunque es una técnica no totalmente específica para identificar aspergilosis (figura 45-6). Además de identificar el galactomanano circulante, la detección de β-glucano es útil también para identificar aspergilosis masiva y candidosis.



A



B

FIGURA 45-27 Aspergilosis invasora. **A:** hifas uniformes, tabicadas, y ramificadas (4 μm de ancho) de *Aspergillus fumigatus* en tejido pulmonar teñido con GMS. 400×. **B:** preparación similar con colorante de Grocott. 1 000×.

Tratamiento

El aspergiloma se trata con itraconazol y anfotericina B y alguna cirugía. La forma invasora obliga a la administración rápida de la presentación original a base de lípidos de la anfotericina B o el voriconazol, a menudo complementado con inmunoterapia a base de citocinas (como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos o el interferón γ). En algunos centros que tratan la leucemia han surgido algunas cepas resistentes a la anfotericina B de *A. terreus* y de otras especies que incluyen *A. flavus* y *A. lentulus,* y pudieran ser más eficaces contra ellas nuevos triazólicos como el posaconazol. La enfermedad necrosante crónica y menos grave de pulmones puede tratarse con voriconazol o itraconazol. Las formas alérgicas de la aspergilosis se tratan con corticosteriodes o cromoglucato disódico.

Epidemiología y control

Las personas en peligro de mostrar enfermedad alérgica o aspergilosis invasora se someterán a medidas para evitar la exposición a los conidios de *Aspergillus*. Casi todas las unidades de trasplante de células madre utilizan sistemas de filtros y aire acondicionado, monitorización de contaminantes aéreos en las estancias de los enfermos, disminución del número de visitantes y práctica de otras medidas para aislar a los pacientes y llevar al mínimo el peligro de exposición a los conidios de *Aspergillus* y otros mohos. Algunas personas en peligro de mostrar aspergilosis invasora reciben con fin profiláctico dosis pequeñas de anfotericina B o itraconazol.

MUCORMICOSIS

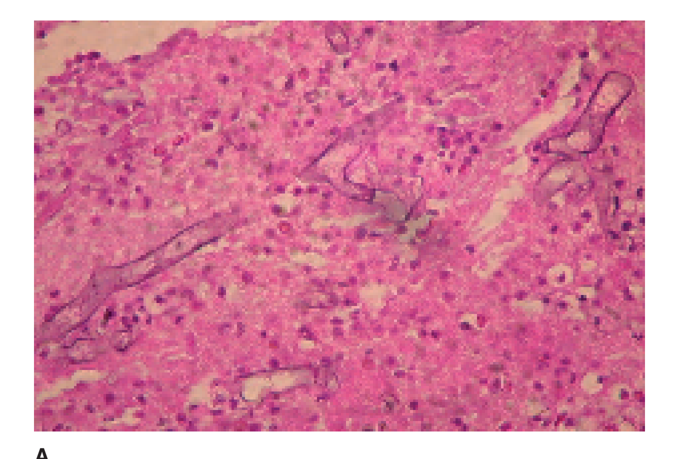
La mucormicosis (cigomicosis) es una micosis por oportunistas causada por diversos mohos clasificados en el orden Mucorales del filo Glomerulomycota y el subfilo Mucoromycotina. Los hongos en cuestión son sapróbicos distribuidos ampliamente, y son termotolerantes. Los principales patógenos del grupo son especies de los géneros *Rhizopus* (figura 45-2), *Rhizomucor, Lichtheimia, Cunninghamella* (figura 45-3) y *Mucor* entre otros. Sin embargo, el agente más frecuente es *Rhizopus oryzae*. Las situaciones que imponen riesgos a los pacientes comprenden acidosis, en particular la que surge con la diabetes mellitus, leucemias, linfoma, corticoterapia, quemaduras graves, inmunodeficiencias y otros cuadros debilitantes, así como diálisis con deferoxamina, un quelante de hierro.

La principal forma clínica es la mucormicosis rinocerebral que es consecuencia de germinación de las esporangiosporas en las vías nasales y la invasión de las hifas en vasos sanguíneos, que causa trombosis, infarto y necrosis. La enfermedad evoluciona rápidamente, con invasión de senos paranasales, ojos, huesos craneales y cerebro. El microorganismo lesiona vasos sanguíneos y nervios y los pacientes terminan por mostrar edema de las zonas faciales afectadas, de las vías nasales mana un exudado sanguinolento, y hay celulitis orbitaria. La mucormicosis torácica se presenta después de la inhalación de las esporangiosporas con invasión del parénquima pulmonar y sus vasos. En ambos sitios la necrosis isquémica causa destrucción masiva de tejidos. Con menor frecuencia el proceso se ha vinculado con apósitos contaminados de heridas y otras situaciones.

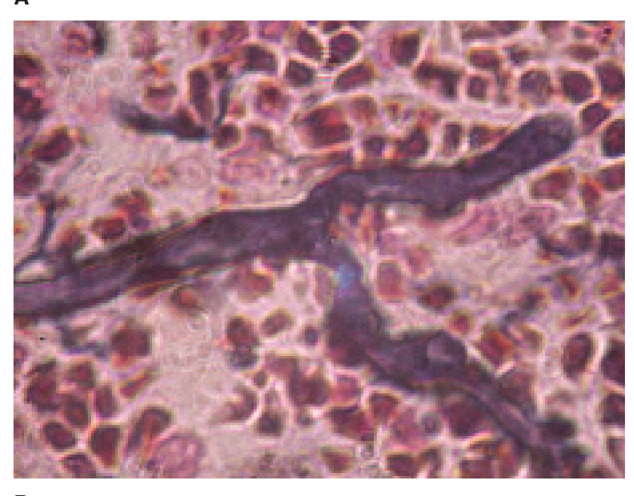
En el examen directo o el cultivo de la secreción nasal, de tejidos, o del esputo, se identificarán hifas anchas (10 a 15 μm), con espesor desigual, ramificaciones irregulares y pocos tabiques (figura 45-28). Los hongos de esta especie proliferan rápidamente en medios de laboratorio y generan abundantes colonias algodonosas. Su identificación se basa en la estructura de sus esporangios. El tratamiento comprende el desbridamiento quirúrgico intensivo, la administración rápida de anfotericina B y el control de la enfermedad primaria. Muchos enfermos sobreviven, pero pueden quedar efectos residuales como la parálisis facial parcial o la pérdida de un ojo.

NEUMONÍA POR *PNEUMOCYSTIS*

Pneumocystis jiroveci origina neumonía en pacientes inmunodeprimidos, pero su diseminación es rara. Hasta fecha reciente se pensaba que dicho microorganismo era un protozoo, pero se ha comprobado por medio de estudios de biología molecular que es un hongo, íntimamente vinculado a los ascomicetos. Están presentes especies de *Pneumocystis* en los pulmones



A



B

FIGURA 45-28 Mucormicosis. **A:** hifas poco tabicadas, anchas, similares a cintas (10 a 15 μm de ancho) de *Rhizopus orizae* en tejido pulmonar. Hematoxilina y eosina, 400×. **B:** muestra histopatológica similar tomada con GMS. 1 000×.

de muchos animales (ratas, ratones, perros, gatos, hurones y conejos), pero rara vez causan enfermedad, salvo que el hospedador muestre inmunodepresión. La especie que afecta a los seres humanos es *P. jiroveci* y solamente en ratas se detecta *P. carinii,* que es más conocida. Hasta que surgió la epidemia de sida, la enfermedad en seres humanos se limitaba a la neumonitis intersticial por plasmacitos en lactantes desnutridos y en enfermos inmunodeprimidos (que se sometían a corticoterapia, antineoplásicos o que recibían trasplantes). Antes de que se introdujeran los quimioprofilácticos eficaces, constituía la principal causa de muerte en enfermos de sida. La medida mencionada ha originado una disminución impresionante en la incidencia de neumonía, pero la frecuencia de las infecciones ha aumentado en otros órganos, en particular el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea.

En lo que toca a su morfología, se conocen formas diferentes de *P. jiroveci:* trofozoitos de pared delgada y quistes de pared gruesa, esféricos o elípticos (4 a 6 μm) y que contienen cuatro a ocho núcleos. Los quistes captan la tinción argéntica, el azul de toluidina y el calcoflúor blanco. En muchas muestras obtenidas de seres humanos se producen los trofozoitos y los quistes en una masa apiñada que probablemente traduce su forma de proliferar en el hospedador. *P. jiroveci* contiene una glucoproteína de superficie que puede detectarse en el suero de personas con un cuadro agudo o en sujetos sanos.

P. jiroveci es un patógeno extracelular. Su proliferación en el pulmón se circunscribe a la capa de la sustancia tensoactiva por arriba del epitelio alveolar. En sujetos que no tienen sida, la infiltración de los espacios alveolares por plasmacitos culmina en neumonitis intersticial por tales células. Los plasmacitos no se detectan en la neumonía por *Pneumocystis* en el sida. El bloqueo de la interfaz de intercambio de oxígeno origina cianosis.

Para confirmar el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis*, las muestras de lavado broncoalveolar, el tejido pulmonar de biopsia o el esputo inducido se tiñen y examinan para buscar quistes o trofozoitos. Entre las tinciones adecuadas están Giemsa, azul de toluidina, metenamina argéntica y calcoflúor blanco. Se cuenta con un anticuerpo monoclonal específico para el estudio de muestras por fluorescencia directa. No se ha podido cultivar *Pneumocystis.* A pesar de no ser útil en la práctica, se han utilizado métodos serológicos para corroborar la prevalencia de la infección.

Si la persona no muestra inmunodepresión, *P. jiroveci* no causa enfermedad. Las pruebas serológicas sugieren que muchos individuos se infectan al inicio de la niñez; el microorganismo está distribuido a nivel mundial. Es probable que la inmunidad mediada por células intervenga de manera dominante en la resistencia a la enfermedad, dado que los pacientes con sida suelen tener importantes cuantificaciones de anticuerpo y no se identifica corrientemente neumonía por *Pneumocystis,* hasta que el número de linfocitos CD4 disminuye a menos de 400 células/μL. En la actualidad está disponible una prueba para antigenemia (cuadro 45-6).

Los casos agudos de neumonía por *Pneumocystis* se tratan con trimetoprim/sulfametoxazol o isetionato de pentamidina. Se logra la profilaxia con el consumo diario del primer fármaco o el segundo en aerosol. También se cuenta con otros fármacos.

No se ha demostrado que exista un reservorio natural y la gente pudiera ser un miembro obligado de la microbiota. A las personas en peligro se les suministran medios de quimioprofilaxia. No se sabe el mecanismo por lo cual surge la infección, pero es posible que la transmisión se haga por aerosoles.

PENICILIOSIS

De las innumerables especies de *Penicillium* distribuidas ampliamente en el ambiente, solamente una es dimórfica, *Penicillium marneffei*; éste ha surgido como un patógeno oportunista y endémico. Se le detecta en algunas regiones del sureste de Asia, que incluyen las regiones del sureste de China, Tailandia, Vietnam, Indonesia, Hong Kong, Taiwán y el estado de Manipur de India. En las regiones endémicas mencionadas se ha aislado *P. marneffei* de la tierra y en particular aquella en que viven ratas de bambú y su hábitat. A temperatura ambiental el moho prolifera con rapidez hasta transformarse en una colonia verde-amarillenta con un pigmento rojizo difusible. Las hifas ramificadas y tabicadas producen conidióforos aéreos que portan fialidas y cadenas basipétalas de conidios, similares a las estructuras de la figura 45-4. En los tejidos, las hifas se transforman en microorganismos unicelulares similares a levaduras (de alrededor 4 × 6 μm), que se dividen por fisión.

Los factores principales en el riesgo de infección son la inmunodeficiencia por VIH/sida, tuberculosis, corticoterapia o enfermedades linfoproliferativas. Las manifestaciones clínicas comprenden fungemia, lesiones de la piel y afección general de múltiples órganos, en particular el sistema reticuloendotelial. Los signos y síntomas incipientes son inespecíficos y pueden comprender tos, fiebre, fatiga, pérdida de peso y linfadenopatía. Sin embargo, 70% de los pacientes, tengan o no sida, terminan por mostrar pápulas cutáneas o subcutáneas, pústulas o manchas situadas en la cara. El diagnóstico se puede definir partiendo de las muestras de piel, sangre o de tejidos para biopsia, por observación microscópica de células similares a levaduras, y positividad de los cultivos. El tratamiento por lo común comprende un ciclo definido de anfotericina B, seguido de itraconazol; la mortalidad rebasa 90% sin tratamiento.

OTRAS MICOSIS POR OPORTUNISTAS

Las personas con deterioro de sus defensas inmunitarias son susceptibles de infecciones por algunos de las miles de mohos sapróbicos que existen en la naturaleza y producen esporas que viajan por el aire; las micosis con tales características surgen con frecuencia menor que la candidosis, la aspergilosis y la mucormicosis porque los hongos son menos patógenos. Los progresos en la medicina han resultado en un número cada vez mayor de enfermos con grave deterioro del sistema inmunitario, en que hongos que por lo general no son patógenos se tornan patógenos oportunistas. Especies de *Fusarium, Paecilomyces, Bipolaris, Curvularia, Alternaria* y otras más han ocasionado infecciones generalizadas devastadoras. Algunos oportunistas se circunscriben a regiones geográficas particulares. Otro factor contribuyente es el uso cada vez más amplio de antibióticos antimicóticos, lo que ha originado el desarrollo (por selección natural) de especies y cepas resistentes de hongos.

Quizá el ejemplo más llamativo de una infección micótica oportunista por un hongo normalmente ambiental fue el brote epidémico de infección del SNC por *Exserohilum rostratum*. El brote comenzó en septiembre de 2012 y se diseminó en Estados Unidos. Fue causado por lotes contaminados de metilprednisolona que se elaboraron para inyección epidural. Las ampolletas de esteroide las abasteció una única compañía en el noreste y estaban contaminadas con el hongo dematiáceo *E. rostratum*, una causa rara de faeohifomicosis. Casi 13 000 pacientes recibieron las inyecciones, quienes en función de su estado inmunitario y el tamaño aleatorio de la inoculación micótica, desarrollaron meningitis crónica a aguda, absceso cerebral y otras manifestaciones. Luego de un periodo de meses, las infecciones se documentaron en más de 750 pacientes en 20 estados. Los CDC desarrollaron con rapidez una prueba con PCR para detectar el hongo en muestras negativas al cultivo. Los pacientes se trataron con anfotericina B, posaconazol e isavuconazol o los tres a la vez, no obstante 63 personas murieron.

CONCEPTOS BÁSICOS: MICOSIS POR OPORTUNISTAS

1. Las micosis por oportunistas se producen por hongos de distribución global que son o bien parte de la microbiota de seres humanos, como las especies de *Candida*, o levaduras y mohos ambientales. Entre las categorías de las micosis, alcanzan su nivel máximo la incidencia, intensidad y mortalidad de las mucosis sistémicas por oportunistas.
2. Las defensas innatas del hospedador, (como neutrófilos, monocitos) protegen de forma decisiva de candidosis sistémicas, aspergilosis invasora y mucormicosis. Los pacientes que están expuestos a riesgos incluyen los que tienen discrasias hematológicas (como leucemia, neutropenia) y los que reciben fármacos inmunodepresores (como los corticosteroides) o citotóxicos.
3. Casi todos los enfermos de VIH/sida terminan por mostrar candidosis de mucosas (comocandidosis bucofaríngea, esofagitis); las personas que tienen menos de 100 linfocitos CD4/μl están expuestos al peligro de presentar criptococosis, neumonía por *Pneumocystis,* aspergilosis, peniciliosis, micosis endémicas y otras infecciones.
4. El diagnóstico de aspergilosis o candidosis invasora puede ser difícil porque los hemocultivos invariablemente son negativos en personas con aspergilosis, y menos de 50% de individuos con candidosis sistémica, muestran positividad.
5. El tratamiento exitoso de micosis por oportunistas comprende el diagnóstico oportuno, la administración rápida de los antimicóticos apropiados y el control del cuadro o la enfermedad primarios.

PROFILAXIA ANTIMICÓTICA

La frecuencia de micosis por oportunistas va en aumento entre enfermos inmunodeficientes, particularmente en aquellos con discrasias hematológicas (como la leucemia), personas que reciben células madre hematopoyéticas, los que reciben en trasplante órganos sólidos y otros más a quienes se administran fármacos citotóxicos e inmunosupresores (como los corticosteroides). Por ejemplo, la incidencia de micosis generalizadas en enfermos de leucemia linfocítica o mielógena aguda es de 5 a 20%, y en quienes reciben alotrasplantes de células madre, 5 a 10%. Muchos de estos enfermos de alto riesgo muestran sus defensas inmunitarias disminuidas, como la reducción en el número de neutrófilos y monocitos circulantes, su funcionalidad o ambas características. Además, los enfermos de sida son extraordinariamente susceptibles a diversas micosis generalizadas cuando el número de sus linfocitos CD4 disminuye a menos de 100 células por mililitro cúbico.

La lista de patógenos oportunistas invasores incluye especies de *Candida, Cryptococcus, Saccharomyces* y otras levaduras; *Aspergillus* y otros mohos ascomicetos, como *Fusarium, Paecilomyces* y *Scopulariopsis*; mohos dermatiáceos (como especies de *Bipolaris, Phialophora, Cladosporium*); y mohos del orden Mucorales, (*Rhizopus*). Suele ser difícil confirmar la identidad definitiva al inicio de la infección, razón por la cual muchos sujetos de alto riesgo se tratan con métodos empíricos o fin profiláctico con algunos antimicóticos. Sin embargo, no hay un consenso universal sobre el criterio de emprender la profilaxia con antimicóticos o la quimioterapia y el régimen específicos. Más bien muchos hospitales de atención especializada (terciaria) han elaborado sus propios protocolos para emprender la

quimioterapia profiláctica a base de antimicóticos en enfermos expuestos a presentar micosis invasora. En muchos hospitales se administra miconazol por vía oral, en tanto que en otros se emprende un ciclo corto de dosis pequeñas de anfotericina B. Algunos de los criterios para emprender la profilaxia antimicótica en un sujeto con una enfermedad y un cuadro subyacente de alto riesgo incluyen fiebre persistente que no mejora con los antibióticos antibacterianos, neutropenia que dura más de siete días, identificación de infiltrados pulmonares nuevos y no explicados, en las radiografías, o insuficiencia de órganos progresiva no explicada.

Ante los progresos de la genómica comparativa, han mejorado las posibilidades de contar con nuevas estrategias en ambos aspectos de la interacción hongo/hospedador. Los análisis secuenciales de cepas virulentas y benignas de especies de hongos patógenos han identificado muchos de los genes, procesos y vías esenciales para entender la virulencia. La información obtenida ha generado más estrategias para combatir las micosis, bloqueo de la unión de los hongos a células del hospedador o la inhibición de la transformación *in vivo* de hongos dimórficos. Los estudios de las respuestas genéticas inmunológicas de mamíferos a hongos han permitido identificar citocinas características y biomarcadores inflamatorios que definen a la respuesta innata y adaptativa del hospedador a hongos invasores.

HIPERSENSIBILIDAD A HONGOS

Durante toda la vida, el aparato respiratorio está expuesto a conidios y esporas de muchos hongos saprofitos que viajan por el aire; dichas partículas suelen tener potentes antígenos de superficie capaces de estimular y desencadenar intensas reacciones alérgicas. Tales respuestas de hipersensibilidad no necesitan de la proliferación y viabilidad del hongo inductor, aunque en algunos casos (aspergilosis broncopulmonar alérgica) pueden coexistir la infección y la alergia. Con base en el sitio de depósito del alérgeno, el enfermo puede presentar rinitis, asma bronquial, alveolitis o neumonitis generalizada. Las personas atópicas son las más susceptibles. El diagnóstico y la magnitud de las reacciones de hipersensibilidad se pueden conocer por pruebas cutáneas a base de extractos del hongo. El tratamiento incluye evitarel alérgeno patógeno, corticoterapia o intentos de desensibilizar a los pacientes.

La exposición en espacios cerrados a gran número de esporas de hongos que viajan en el aire ha permitido identificar un cuadro descrito como el "síndrome del edificio mal ventilado", en el cual la humedad de los materiales de construcción como la madera y el fibrocemento, permite la proliferación irrestricta de los mohos contaminantes. La generación y la contaminación del aire en espacios cerrados, con grandes números de conidios, ha ocasionado casos consuntivos de reacciones alérgicas o tóxicas sistémicas. A menudo la infección con el moho es tan extensa que es imposible eliminarlos con fungicidas o filtros; muchos edificios con dichas características han terminado por ser demolidos. Los mohos patógenos suelen ser ascomicetos no infectantes como *Stachybotrys, Cladosporium, Fusarium* y otros más.

MICOTOXINAS

Muchos hongos producen sustancias dañinas llamadas micotoxinas que originan intoxicaciones y lesiones agudas o crónicas. Ellas son metabolitos secundarios y sus efectos no dependen de la infección o de la viabilidad del hongo. Algunas setas producen diversas micotoxinas (como especies de *Amanita*) y su ingestión origina un cuadro llamado **micetismo**. La cocción ejerce poco efecto en la potencia de las toxinas; éstas pueden ocasionar daño grave o letal al hígado y a los riñones. Otros hongos producen compuestos mutágenos y carcinógenos que son extraordinariamente tóxicos para los animales de experimentación. Uno de los más potentes es la **aflatoxina** elaborada por *Aspergillus flavus* y hongos similares y es contaminante frecuente de cacahuates, maíz, granos y otros alimentos.

FARMACOTERAPIA ANTIMICÓTICA

Es posible utilizar un número escaso (aunque cada vez mayor) de antibióticos para combatir las micosis. Muchos tienen una o más limitaciones, como efectos secundarios profundos, un espectro antimicótico escaso, poca penetración en algunos tejidos y mutaciones de hongos resistentes por selección biológica. Es difícil identificar puntos de acción idóneos en los hongos porque éstos, a semejanza de los seres humanos, son eucariotes. Muchos de los procesos celulares y moleculares son similares y suele haber homología extensa entre los genes y las proteínas.

Entre las clases de fármacos de distribución amplia están los polienos (anfotericina B y nistatina), que se fijan al ergosterol de la membrana celular; la flucitosina, análogo pirimidínico; los azólicos y otros inhibidores de la síntesis de ergosterol como las alilaminas; las equinocandinas, que inhiben la síntesis de β-glucano parietal, y la griseofulvina que interviene en el ensamblado del microtúbulo. Entre los productos en investigación están los inhibidores de la síntesis de la pared del microorganismo como la nicomicina y la pradimicina, así como la sordarina, que inhibe el factor de elongación 2.

En años recientes se ha incrementado el número de productos antimicóticos; están en fase de evaluación en seres humanos más compuestos. El cuadro 45-7 incluye un resumen selectivo de los productos disponibles. Muchos de los fármacos más nuevos son variantes de la clase de azólicos fungistáticos como los triazoles (voriconazol y posaconazol). Estos fármacos y otros nuevos fueron diseñados para mejorar la eficacia antimicótica y la farmacocinética, además de también disminuir el número de efectos secundarios.

Anfotericina B

A. Descripción

El principal antibiótico polieno es la anfotericina B, metabolito de Streptomyces; es el fármaco más eficaz contra las micosis sistémicas graves. Posee espectro amplio y rara vez genera resistencia. El mecanismo de acción de los polienos entraña la formación de complejos con ergosterol en la membrana del hongo, lo cual la daña y permite la fuga de su contenido. La anfotericina B posee mayor afinidad por el ergosterol que por el colesterol, que es el esterol predominante en la membrana

CUADRO 45-7 Comparación de los antimicóticos comunes para el tratamiento de micosis sistémicas

Clase y mecanismo	Fármaco	Vía	Espectro	Indicaciones	Efectos tóxicos	Comentarios
Polienos: fijan ergosterol en la membrana del hongo; inmunomodulación	Anfotericina B	IV	Amplio	Las micosis invasoras más graves	Frecuentes: nefrotoxicidad, reacciones agudas a la venoclisis, fiebre, escalofríos, anemia, alteraciones de electrólitos, y muchas más	Fungicida: la resistencia es rara
	Presentaciones lípidas de anfotericina B[a]	IV	Amplio	Las micosis invasoras más graves	Disminución de la nefrotoxicidad; número menor de otros efectos secundarios	Alteración en la distribución hística
Antimetabolitos: se transforman en fluorouracilo y alteran la síntesis de pirimidinas y RNA	Flucitosina	VO	Levaduras; hongos dematiáceos	Candidosis, criptococosis, feohifomicosis	Trastornos de vías GI (náusea, vómito, diarrea), neuropatía, afección de médula ósea	Es frecuente la resistencia si se usa como un solo fármaco; niveles altos en LCR y en orina. Los niveles terapéuticos se vigilan a menudo
Azólicos[b]: inhiben la síntesis de ergosterol; bloquean la desmetilación 14-α de lanosterol que depende del citocromo P450	Cetoconazol	VO, tópico	Limitado	Candidosis, dermatomicosis resistentes	Cambios hormonales, efectos tóxicos en hígado, perturbaciones de vías GI, neuropatías	Poca absorción después de ingerido
	Itraconazol	VO, IV	Amplio	Micosis endémicas, aspergilosis, candidosis, criptococosis, feohifomicosis	Cuadro leve: perturbaciones de vías GI, efectos tóxicos en hígado, neuropatía, alteraciones de médula ósea; recomendaciones muy diligentes por el riesgo de efectos tóxicos en corazón	Poca absorción particularmente en el caso de las cápsulas. La absorción es mayor si se administra en solución, pero con ella surge con mayor frecuencia diarrea. Es importante medir en forma seriada los niveles en sangre
	Fluconazol	VO, IV	Limitado	Candidosis, criptococosis	Producto comparativamente inocuo; perturbaciones de vías GI, mareos, lesiones de piel y otros signos	Absorción excelente; se utiliza ampliamente en profilaxia y tratamiento empírico; surge resistencia a menudo con *Candida glabrata* y *Candida krusei*
	Voriconazol	VO, IV	Amplio	Aspergilosis, candidosis, mohos raros, micosis endémicas, criptococosis, feohifomicosis	Toxicidad poca; efectos visuales transitorios en 30%, aproximadamente, de los casos Efectos tóxicos hepáticos, alteraciones de las vías GI, erupción	Es importante medir en forma seriada las concentraciones en sangre
	Posaconazol	VO	Amplio	Similar a voriconazol y además cigomicetos	Comparativamente inocuo, perturbaciones de vías GI, cefaleas, somnolencia, mareos, fatiga, toxicidad de hígado	Varía su absorción; se ha aprobado su uso como profiláctico en algunos cancerosos
Equinocandinas: perturban la síntesis de la pared celular del hongo; inhiben 1,3-β-D-glucano sintasa	Caspofungina	IV	Limitado	Candidosis invasora; aspergilosis refractaria	Producto inocuo con mínimos efectos tóxicos: perturbaciones de vías GI, erupción, cefalea	Utilizado en tratamiento empírico
	Micafungina	IV	Limitado	Candidosis esofágica	Efectos poco frecuentes; fiebre	Utilizado como profiláctico
	Anidulafungina	IV	Limitado	Candidosis invasora	Efectos poco frecuentes	

[a]Anfotericina B, dispersión coloidal (ABDC), anfotericina B, complejo lípido (ABLC) y anfotericina B en liposomas (L-AMB).

[b]Todos los azólicos pueden inhibir las isoenzimas de citocromo P450 del hospedador y causar interacciones diversas con otros fármacos.

celular de mamíferos. El empacado de dicho fármaco en liposomas y emulsiones lipoídicas ha permitido obtener eficacia extraordinaria y resultados excelentes en los estudios clínicos. Las presentaciones mencionadas se pueden obtener y posiblemente sustituyan a las actuales. Los preparados lípidos son menos tóxicos y permiten el empleo de concentraciones de anfotericina B mayores.

Anfotericina B

B. Mecanismo de acción

La anfotericina B se administra por vía endovenosa, en la forma de micelas con desoxicolato sódico disuelto en una solución glucosada. El fármaco se distribuye ampliamente en los tejidos, pero apenas si penetra en el LCR. Dicho producto se fija firmemente al ergosterol en la membrana celular, interacción que altera su fluidez y posiblemente origina poros en esa estructura, a través de la cual salen iones y pequeñas moléculas. A diferencia de otros antimicóticos, la anfotericina B tiene acción fungicida. Las células de mamíferos no poseen ergosterol y son relativamente resistentes a tales acciones. La anfotericina B se fija débilmente al colesterol de las membranas de células de mamíferos, interacción que pudiera explicar sus efectos tóxicos; en cantidades pequeñas tiene efecto inmunoestimulante.

C. Indicaciones

La anfotericina B tiene un espectro amplio y posee eficacia demostrada contra muchas de las graves micosis sistémicas que incluyen coccidioidomicosis, blastomicosis, histoplasmosis, esporotricosis, criptococosis, aspergilosis, mucormicosis y candidosis. La respuesta al fármaco es influida por la dosis y la frecuencia de administración, el sitio de la infección micótica, el estado inmunitario del paciente y la susceptibilidad inherente del patógeno. Es poca la penetración en las articulaciones y el SNC; en algunas infecciones se recomienda la administración intrarraquídea o intraarticular. El fármaco en cuestión se combina a veces con la flucitosina para tratar la criptococosis. Algunos hongos como *Pseudallescheria boydii* y *Aspergillus terreus,* no reaccionan adecuadamente al tratamiento con anfotericina B.

D. Efectos secundarios

Todos los pacientes presentan reacciones adversas a la anfotericina B, aunque han disminuido enormemente con las nuevas presentaciones en lípidos. Entre las reacciones agudas que suelen surgir con la administración intravenosa del fármaco están fiebre, escalofríos, disnea e hipotensión, mismas que pueden ser aliviadas por la administración previa o simultánea de hidrocortisona o paracetamol (acetaminofeno). Durante el tratamiento se produce tolerancia a los efectos secundarios agudos.

Los efectos secundarios crónicos por lo común son consecuencia de nefrotoxicidad. La administración del fármaco casi siempre ocasiona azoemia y hay que medir con gran precisión y en forma seriada los niveles de creatinina y de iones séricos. A menudo surgen hipopotasemia, anemia, acidosis tubular renal, cefaleas, náusea y vómito. Algunos de los efectos tóxicos en riñones son reversibles, pero se sabe que disminuye en forma permanente la función glomerular y tubular de los riñones. Dicho daño pudiera guardar relación con la dosis total de anfotericina B administrada. Los efectos tóxicos disminuyen con las presentaciones lípidas del antimicótico.

Flucitosina

A. Descripción

La flucitosina (5-fluorocitosina) es un derivado fluorado de la citosina. Es un antimicótico oral que se usa preferentemente junto con la anfotericina B para combatir la criptococosis o la candidosis. Es eficaz también contra muchos hongos dematiáceos. Penetra de forma satisfactoria en todos los tejidos, incluido el líquido cefalorraquídeo.

Flucitosina

B. Mecanismo de acción

La flucitosina se transporta en forma activa al interior de los hongos por medio de una permeasa. La enzima de hongos citosina desaminasa la convierte en 5-fluoracilo y la incorpora en el monofosfato del ácido 5-fluorodesoxiuridílico que interfiere en la actividad de la timidilato sintasa y la síntesis de DNA. Las células de mamíferos no tienen la citosina desaminasa y por consiguiente, están protegidas de los efectos tóxicos del fluorouracilo. Por desgracia, a corto plazo surgen mutantes resistentes que merman la utilidad del fármaco.

C. Indicaciones

La flucitosina se utiliza más bien con la anfotericina B para tratar la criptococosis y la candidosis. *In vitro* actúa en forma sinérgica con dicho antimicótico, contra los microorganismos correspondientes; los datos de estudios en seres humanos sugieren un efecto beneficioso de dicha combinación, particularmente en la meningitis por criptococos. Se ha demostrado que la combinación de ambos retrasa o limita el desarrollo de mutantes resistentes a la flucitosina. En sí misma, la flucitosina es eficaz contra la cromoblastomicosis y otras infecciones por hongos dematiáceos.

D. Efectos secundarios

Es probable que la propia flucitosina genere pocos efectos tóxicos en células de mamíferos y sea relativamente bien tolerada, pero al ser convertida en fluororacilo surge un compuesto

apter 45_Carroll_4R.indd 696 15/04/16

altamente tóxico que quizá sea el que origine los efectos secundarios importantes. La administración prolongada de este fármaco ocasiona supresión de médula ósea, alopecia y alteraciones de la función hepática. La conversión de flucitosina en fluorouracilo por parte de las bacterias intestinales puede causar colitis. Los pacientes de sida pueden ser más susceptibles a la supresión de la médula ósea por flucitosina y hay que medir con gran minuciosidad y frecuencia sus concentraciones en suero.

Azólicos

A. Descripción

Los imidazoles antimicóticos (como el cetoconazol) y los triazoles (fluconazol, voriconazol e itraconazol) son fármacos orales que se usan para combatir infecciones micóticas sistémicas y localizadas de muy diversa índole (figura 45-29). Aún está en fase de valoración las indicaciones para usarlos, pero han reemplazado a la anfotericina B para tratar muchas micosis menos graves, porque pueden administrarse por vía oral y son menos tóxicos. Otros imidazoles como el miconazol y el clotrimazol se emplean en forma tópica y se describirán más adelante.

B. Mecanismo de acción

Los azólicos interfieren en la síntesis de ergosterol; bloquean la desmetilación 14α, que depende del citocromo P450, del lanosterol, precursor del ergosterol en los hongos y del colesterol en células de mamíferos. Sin embargo, los citocromos P450 de hongos son 100 a 1 000 veces más sensibles a los azólicos que los sistemas de mamíferos. Los compuestos de esta categoría han sido creados para mejorar su eficacia, disponibilidad y farmacocinética y aminorar sus efectos secundarios; son fungistáticos.

C. Indicaciones

Las indicaciones para utilizar los azólicos antimicóticos se ampliarán conforme se disponga de los resultados de estudios a largo plazo (y también los de los nuevos azólicos). Más adelante se incluyen las indicaciones aceptadas para utilizar los productos de esta categoría.

FIGURA 45-29 Estructuras de azólicos antimicóticos. (Con autorización de Katzung BG [ed.]: *Basic and Clinical Pharmacology,* 11a. ed. McGraw Hill, 2009. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

El cetoconazol es útil para tratar candidosis mucocutánea crónica, dermatofitosis y las formas no meníngeas de blastomicosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis e histoplasmosis. De los compuestos de esta categoría el fluconazol es el que mejor penetra en el SNC. Se utiliza como fármaco complementario en la meningitis por criptococos y por coccidioides. También pueden recibirlo los sujetos con sida con candidosis bucofaríngea y pacientes inmunocompetentes con candidemia. El itraconazol constituye el fármaco de primera elección contra la histoplasmosis y la blastomicosis y también contra algunos casos de coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis y aspergilosis. Según se sabe, es eficaz para tratar la cromomicosis y la onicomicosis por dermatofitos y otros mohos. El voriconazol, que se puede administrar por vía oral o intravenosa, tiene un espectro de actividad amplio contra muchos mohos y levaduras, en particular aspergilosis, fusariosis, seudoalesqueriosis y cuadros por otros patógenos sistémicos menos frecuentes. El triazólico más nuevo es el posaconazol (figura 45-30A), con un espectro de acción amplio y eficacia demostrada contra especies de *Candida,* aspergilosis, mucormicosis y otros mohos invasores oportunistas, todos resistentes al fluconazol. Se tolera satisfactoriamente.

D. Efectos secundarios

Los efectos secundarios de los azólicos provienen más bien de su capacidad de inhibir las enzimas del citocromo P450 de mamíferos. El cetoconazol es el más tóxico y en dosis terapéuticas puede inhibir la síntesis de testosterona y de cortisol y ocasionar así diversos efectos reversibles como ginecomastia, disminución de la libido, impotencia, irregularidades menstruales y a veces insuficiencia suprarrenal. El fluconazol y el itraconazol en dosis terapéuticas recomendadas no afectan de manera importante la esteroidogenesis de mamíferos. Todos los azólicos antimicóticos originan incrementos asintomáticos de las concentraciones de las pruebas de función hepática y casos ocasionales de hepatitis. El voriconazol origina deficiencia visual reversible, en cerca de 30% de los pacientes.

Los azólicos antimicóticos interactúan con las enzimas del citocromo P450 encargadas del metabolismo de fármacos, y por esa razón surgen algunas interacciones medicamentosas importantes. A veces aumentan las concentraciones de los azólicos mencionados cuando se utilizan isoniazida, difenilhidantoinato o rifampicina. La administración de los antimicóticos también hace que las concentraciones séricas de ciclosporinas, difenilhidantoinato, hipoglucemiantes orales, anticoagulantes, digoxina y quizá otros más, aumenten más de lo previsto. Se necesita a veces la medición seriada de las concentraciones de ambos fármacos en suero para estar dentro de límites terapéuticos apropiados.

Equinocandinas

Las equinocandinas constituyen una clase nueva de antimicóticos que alteran la síntesis del polisacárido β-glucano que abunda en la pared celular, al inhibir la 1,3-β-glucano sintasa y perturbar la integridad de dicha pared. La caspofungina, primer fármaco aprobado, ha sido eficaz contra aspergilosis invasora y candidosis sistémica por especies muy diversas de *Candida* (figura 45-30B); dicho agente intravenoso puede estar indicado en particular contra la aspergilosis resistente. La caspofungina también se tolera de forma satisfactoria.

La micafungina y la anidulafungina, dos equinocandinas de aprobación reciente similares a la caspofungina, también inhiben la síntesis de β-glucano, y su espectro de actividad contra especies de *Candida* y *Aspergillus* y otros mohos es muy similar. Los dos antimicóticos mencionados (figura 45-30C) en fecha reciente fueron aprobados para el tratamiento de la candidosis esofágica y la profilaxia antimicótica en sujetos que recibieron células madre hematopoyéticas en trasplantes. En ambos al parecer es mejor la farmacocinética y la estabilidad *in vivo*, que con la caspofungina. Estudios clínicos sugieren que serán útiles para tratar candidosis de mucosas y generalizadas, aspergilosis invasora y resistente y en combinación con la anfotericina B, o algunos de los triazólicos más nuevos.

Griseofulvina

Ésta es un antibiótico oral derivada de especies de hongos del género *Penicillium*. Se utiliza para combatir dermatofitosis y es necesario administrarla por tiempo prolongado. Es poca la absorción del fármaco y se concentra en el estrato córneo, sitio en que inhibe la proliferación de hifas. No ejerce efecto alguno en otros hongos.

Griseofulvina

Una vez administrada, la griseofulvina se distribuye en todo el cuerpo, pero se acumula en tejidos queratinizados. En el interior del hongo interactúa con los microtúbulos y anula la función del huso mitótico, con lo cual queda inhibida la proliferación. Afecta solamente a las hifas en fase de proliferación activa. La griseofulvina es útil en seres humanos para tratar dermatofitosis de la piel, el cabello y las uñas. Por lo común, se necesita ingerirla durante meses o semanas, y por lo regular es tolerada de manera satisfactoria. El efecto adverso más común es la cefalea que muestra resolución sin interrumpir el consumo del medicamento. Otros efectos secundarios menos frecuentes son molestias gastointestinales, somnolencia y hepatotoxicidad.

Terbinafina

La terbinafina es un alilamínico; bloquea la síntesis de ergosterol al inhibir la epoxidasa de escualeno (figura 45-30D). Es un fármaco oral usado para tratar dermatofitosis y ha sido muy eficaz para combatir infecciones de uñas y otras dermatofitosis. Sus efectos secundarios no son frecuentes, pero comprenden molestias gastrointestinales, cefaleas, reacciones de la piel y disminución del sentido del gusto. Para el tratamiento a largo plazo de la tiña de las uñas puede administrarse la terbinafina

apter 45_Carroll_4R.indd 698 15/04/16

FIGURA 45-30 Nuevos antimicóticos. **A:** posaconazol. **B:** caspofungina. **C:** micafungina. **D:** terbinafina.

de manera intermitente, así como el itraconazol y el fluconazol, y para ello seguir un protocolo en días alternos.

ANTIMICÓTICOS TÓPICOS

Nistatina

La nistatina es un antibiótico polieno; tiene algunas semejanzas estructurales con la anfotericina B y un mecanismo similar de acción. Se le puede usar para combatir candidosis locales de la boca y la vagina. También suprime la candidosis esofágica subclínica y la proliferación excesiva de *Candida* en el tubo digestivo. No muestra absorción a nivel general ni tiene efectos secundarios. Sin embargo, es demasiado tóxica para administrarla por vía parenteral.

Clotrimazol, miconazol y otros azólicos

Se cuenta con diversos azólicos antimicóticos demasiado tóxicos para uso general, pero que se emplean en forma tópica. Se conocen varias presentaciones de clotrimazol y miconazol; también se dispone de econazol, butaconazol, tioconazol y terconazol. Todos ellos tienen eficacia similar.

Los azólicos tópicos tienen un espectro amplio de actividad y reaccionan muy bien a la aplicación de cremas o polvo, entidades como las tiñas de los pies, del cuerpo, de la ingle, la versicolor y la candidosis cutánea. La candidosis vulvovaginal se puede tratar con óvulos o cremas vaginales. También se dispone del clotrimazol en trociscos para combatir la candidosis de la boca y del esófago en personas inmunocompetentes. Para tratar infecciones ungueales, que a menudo son resistentes, el nuevo azol tópico luliconazol ha demostrado eficacia impresionante.

Otros antimicóticos tópicos

El tolnaftato y la naftifina son antimicóticos tópicos que se usan para tratar muchas dermatofitosis y la tiña versicolor. Sus presentaciones incluyen cremas, polvos y nebulizaciones. Se dispone de varias presentaciones del ácido undecilénico para tratar las tiñas de los pies y de la ingle. Es un fármaco eficaz y bien tolerado, pero son más eficaces los azólicos antimicóticos naftifina y tolnaftato. El haloprogin y el ciclopirox son otros fármacos tópicos usados a menudo contra dermatofitosis.

CONCEPTOS BÁSICOS: TRATAMIENTO ANTIMICÓTICO

1. El tratamiento eficaz depende de la identificación rápida del hongo, la administración del fármaco apropiado y el tratamiento de cualquier enfermedad o cuadro primario.
2. El polieno fungicida anfotericina B tiene un espectro amplio y agrava la resistencia a él. Se debe vigilar la toxicidad renal y otras reacciones adversas para poder controlarlos.
3. En comparación con los polienos, los azoles fungistáticos tienen limitada actividad antimicótico, pero los efectos tóxicos con ellos son menos graves. El voriconazol y el posaconazol presentan espectros antimicóticos más amplios que el cetaconazol, el itraconazol y el fluconazol.
4. Las equinocandinas, como caspofungina, micafungina y anidulafungina, son fungistáticos y tienen probada eficacia contra especies de *Candida*.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál es la correcta?
   (A) Todos los hongos pueden proliferar en la forma de levaduras y mohos
   (B) Los hongos son eucariotes pero no tienen mitocondrias
   (C) Los hongos son fotosintéticos
   (D) Los hongos tienen uno o más núcleos y cromosomas
   (E) Pocos hongos tienen membranas
2. De las aseveraciones relacionadas con la proliferación y la morfología de hongos, ¿cuál es la correcta?
   (A) Todas las levaduras producen seudohifas
   (B) Los mohos producen hifas que pueden o no mostrar paredes celulares cruzadas o tabiques
   (C) Los conidios se producen por reproducción sexual
   (D) Muchas levaduras se reproducen por gemación y no tienen paredes celulares
   (E) Muchos mohos dimórficos patógenos producen hifas en el hospedador y levaduras a 30 °C
3. De las afirmaciones siguientes relacionadas con la pared celular de los hongos, ¿cuál es la correcta?
   (A) Los principales componentes de las paredes celulares de hongos son proteínas como la quitina, glucanos y mananos
   (B) La pared celular de los hongos no es esencial para su viabilidad o supervivencia
   (C) Los ligandos localizados en la pared celular de algunos hongos median su fijación a las células del hospedador
   (D) Los componentes de la pared celular de los hongos son los sitios de ataque de las principales clases de antibióticos antimicóticos, como los polienos y azólicos
   (E) Los componentes de la pared celular de los hongos rara vez estimulan una respuesta inmunitaria
4. Un varón de 54 años mostró una cefalea cada vez más intensa seguida de debilidad progresiva y gradual del brazo derecho. La gamagrafía del cerebro señaló la presencia de una lesión en el hemisferio izquierdo. En la operación se identificó un absceso rodeado de material granulomatoso. En los cortes de tejido del cultivo ulterior se observaron hifas tabicadas de pigmentación oscura, que denotaba feohifomicosis. ¿La especie de qué género puede causar dicha infección?
   (A) Aspergillus
   (B) Cladophialophora
   (C) *Coccidioides*
   (D) *Malassezia*
   (E) *Sporothrix*
5. Un varón de 35 años, agricultor en la zona tropical de África Occidental, presentó una pápula persistente y exfoliativa en la pierna. Diez meses más tarde se produjo un nuevo brote de lesiones exfoliativas, violáceas similares a verrugas, que evolucionaron de modo lento hasta tener un aspecto de coliflor. Se hizo el diagnóstico de cromoblastomicosis (cromomicosis). De las afirmaciones siguientes en relación con dicha enfermedad, ¿cuál es la más correcta?
   (A) En los tejidos los microorganismos asumen formas esféricas, que se reproducen por fisión y muestran tabiques transversos

(B) Los agentes causativos son miembros endógenos de la flora y de mamíferos y poseen paredes celulares con melanina
(C) La enfermedad es causada por una sola especie
(D) Casi todas las infecciones son generalizadas
(E) Casi todas las infecciones son agudas y desaparecen de manera espontánea

6. Un varón VIH-positivo de 42 años, cuyo país de origen es Vietnam, con residencia en Tucson, Arizona; acude al médico por una lesión ulcerosa dolorosa en el labio superior (queilitis). Se obtuvo material para biopsia y el estudio histopatológico (con hematoxilina y eosina) indicó la presencia de estructuras esféricas (20 a 50 μm de diámetro) con paredes celulares insensibles y gruesas. Señale la enfermedad que con mayor probabilidad muestra tal signo:
   (A) Infección por *Penicillium marneffei*
   (B) Criptococosis
   (C) Blastomicosis
   (D) Coccidioidomicosis
   (E) Sin importancia diagnóstica

7. Varón de 47 años con diabetes mellitus mal controlada, que presentó la salida de material sanguinolento por la nariz, edema facial y necrosis del tabique nasal. En el cultivo de las secreciones turbias de las vías nasales se identificaron especies de *Rhizopus*. Señale cuál es la consecuencia más importante de dicha información:
   (A) No tiene importancia diagnóstica porque dicho moho es un contaminante que viaja por el aire
   (B) Pensar en el tratamiento de mucormicosis rinocerebral (cigomicosis)
   (C) Signo que sugiere fuertemente cetoacidosis
   (D) Signo que sugiere fuertemente infección por VIH
   (E) El paciente estuvo expuesto a la contaminación por mohos en espacios cerrados

8. Un niño de ocho años muestra una lesión circular, seca, exfoliativa y pruriginosa en la pierna. Señale la importancia diagnóstica de observar hifas no pigmentadas, tabicadas y ramificadas en una preparación de KOH/calcoflúor blanco, de raspaduras de la lesión.
   (A) Cromomicosis
   (B) Dermatofitosis
   (C) Feohifomicosis
   (D) Esporotricosis
   (E) Sin importancia diagnóstica

9. Entre los planteamientos siguientes sobre la epidemiología de la candidosis, ¿cuál es el correcto?
   (A) Los enfermos que reciben médula ósea en trasplante no están en peligro de presentar candidosis generalizada
   (B) Los enfermos en que hay disminución del número de neutrófilos y monocitos o llegan a niveles pequeños no están expuestos al riesgo de candidosis generalizada
   (C) Los sujetos con cualquier forma de diabetes tienen una mayor resistencia a la candidosis
   (D) Los enfermos de sida a menudo presentan candidosis mucocutánea, como candidosis bucofaríngea
   (E) El embarazo disminuye el riesgo de vaginitis por candida

10. De las afirmaciones siguientes respecto a las dermatofitosis, ¿cuál es la correcta?
   (A) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos zoófilos, como *Microsporum canis*
   (B) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Microsporum canis*
   (C) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Microsporum canis*
   (D) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Microsporum canis*

11. De las afirmaciones siguientes en cuanto a la identificación de hongos por medio de laboratorio, ¿cuál es la correcta?
   (A) De forma típica, *Histoplasma capsulatum* necesita menos de 48 h de incubación para que los cultivos de muestras clínicas sean positivos
   (B) Muchos mohos sapróbicos (no patógenos) se asemejan a los agentes micóticos dimórficos en cultivos a 30 °C, razón por la cual la identificación de los supuestos hongos patógenos dimórficos debe confirmarse por la conversión *in vitro* a la forma hística o por la detección de antígenos específicos de cada especie o el análisis de la secuencia de DNA
   (C) De forma sistemática se define la especie de los mohos por medio de una batería de pruebas fisiológicas como la capacidad de asimilar diversos azúcares
   (D) La prueba positiva que identifica tubos germinativos permite la identificación presuncional rápida de *Candida glabrata*
   (E) Son típicas de *Pneumocystis jiroveci* la presencia de levaduras en gemación y abundantes seudohifas

12. Una prostituta de 29 años de edad que provino del sur de California se quejó de cefaleas, mareos y a veces crisis de "flotar en el espacio" en las últimas dos semanas. En el estudio de líquido obtenido por tensión lumbar se identificó una menor concentración de glucosa, aumento de proteínas y 450 mononucleares por mililitro. Era seropositiva respecto a VIH. Sus antecedentes son compatibles con meningitis micótica causada por *Cryptococus neoformans, Coccidioides posadasii,* o una especie de *Candida*. De los estudios siguientes, ¿cuál sería confirmatorio?
   (A) la meningitis por *Coccidioides posadasii* podría confirmarse por la positividad del antígeno capsular de criptococos en el LCR
   (B) La meningitis por *Cryptococus neoformans* se confirmaría por la positividad de anticuerpos por fijación de complemento contra la coccidioidina en LCR
   (C) La meningitis por una especie de *Candida* se confirmaría por la observación microscópica de levaduras ovales y seudohifas en LCR
   (D) La meningitis por *Coccidioides posadasii* se confirmaría por la positividad de una prueba cutánea a la coccidioidina

13. De las afirmaciones respecto a la feohifomicosis, ¿cuál es la correcta?
   (A) La infección sólo afecta a enfermos inmunocompetentes
   (B) En el tejido infectado se identifican hifas no pigmentadas, tabicadas y ramificadas
   (C) Los agentes causales son miembros de la microbiota normal y se les identifica con facilidad en la piel y la mucosa de sujetos sanos
   (D) La feohifomicosis muestra algunas manifestaciones clínicas como ataque subcutáneo o generalizado y también sinusitis
   (E) Los enfermos rara vez mejoran con la administración de itraconazol

14. Varón de 37 años con sida que en la actualidad vive en Indianápolis, Indiana, acudió al médico, con osteomielitis de la cadera izquierda. Se obtuvo médula ósea por medio de aguja de biopsia y en la muestra teñida con calcoflúor blanco se identificaron células mielógenas, monocitos y macrófagos que contenían innumerables levaduras intracelulares, elípticas y que medían 2 × 4 μm, en promedio. Cuál sería la entidad diagnóstica más probable?
   (A) Blastomicosis
   (B) Candidosis

(C) Criptococosis
(D) Histoplasmosis
(E) Sin importancia diagnóstica

15. El estudio de esputo tratado con KOH obtenido de un sujeto a quien se le trasplantó el corazón y que muestra infiltrados pulmonares y fiebre, contiene levaduras gemantes ovales y seudohifas. Señale la entidad diagnóstica más probable:
    (A) Aspergilosis
    (B) Candidosis
    (C) Hialohifomicosis
    (D) Feohifomicosis
    (E) Sin importancia diagnóstica

16. Varón en etapa media de la vida residente del sur de California, a quien se hizo un trasplante de hígado. En los meses siguientes al injerto, poco a poco presentó fatiga, pérdida de peso, tos, sudación nocturna, disnea y un nódulo subcutáneo en la nariz que no curaba. En la radiografía de tórax se observaron linfadenopatía hiliar e infiltrados difusos. No se identificaron microorganismos en el estudio directo y el cultivo de la muestra de vías respiratorias. Fueron negativas las pruebas cutáneas con PPD, blastomicina, coccidioidina e histoplasmina. Los resultados de estudios serológicos fueron los siguientes: negatividad del antígeno capsular de criptococo en la sangre; positividad de la prueba de inmunodifusión en relación con las precipitinas séricas al antígeno F del hongo y negatividad de estudios de inmunodifusión en busca de precipitinas a los antígenos h, m y A. No se identificó *Blastomyces dermatitidis* por método séricos en busca de anticuerpos a la fijación de complemento, del hongo y también a los antígenos de micelios y levaduras de *Histoplasma capsulatum,* pero con la coccidioidina se obtuvo una cuantificación de 1:32. Señale la interpretación de los datos anteriores que sea más sostenible.
    (A) Los datos clínicos y serológicos no son concluyentes
    (B) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con histoplasmosis diseminada activa
    (C) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con blastomicosis diseminada activa
    (D) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con coccidioidomicosis diseminada activa
    (E) Los datos clínicos y serológicos descartan el diagnóstico de blastomicosis, histoplasmosis y coccidioidomicosis

17. De las afirmaciones sobre aspergilosis que se presentan, ¿cuál es la correcta?
    (A) Los enfermos de aspergilosis broncopulmonar alérgica rara vez muestran eosinofilia
    (B) Los pacientes sometidos a corticoterapia parenteral no están en peligro de aspergilosis invasora
    (C) El diagnóstico de aspergilosis pulmonar suele corroborarse por medio del cultivo de *Aspergillus* del esputo y la sangre
    (D) Entre las manifestaciones clínicas de la aspergilosis están las infecciones locales, del oído, la córnea, las uñas y los senos paranasales
    (E) Las personas que han recibido médula ósea en trasplante no están en peligro de presentar aspergilosis invasora

18. De las afirmaciones siguientes respecto a la esporotricosis, ¿cuál es la correcta?
    (A) La causa más frecuente es *Pseudallescheria boydii (Scedosporium apiospermum*)
    (B) La causa es un hongo dimórfico
    (C) Se desconoce la ecología del agente causativo
    (D) Muchos de los casos son subcutáneos y no linfangíticos
    (E) Muchos pacientes muestran inmunodepresión

19. Un migrante trabajador de 24 años proveniente de Colombia, es VIH-negativo, acudió al médico por una lesión ulcerada dolorosa en la lengua. El médico raspó con suavidad el borde de la lesión y en la muestra preparada con KOH y teñida con calcoflúor blanco se identificaron células de tejido, restos y algunas grandes levaduras esféricas gemantes en multiplicación. Con base en la observación anterior, ¿cuál es el diagnóstico más probable?
    (A) Blastomicosis
    (B) Candidosis
    (C) Coccidioidomicosis
    (D) Histoplasmosis
    (E) Paracoccidioidomicosis

20. De las siguientes afirmaciones sobre la blastomicosis, ¿cuál es la correcta?
    (A) La infección en cuestión, en forma semejante a como se observa a otras micosis endémicas, afecta por igual a varones y mujeres.
    (B) La infección comienza en la piel y los microorganismos se diseminan a los pulmones, los huesos, el aparato genitourinario y otros sitios
    (C) La enfermedad es endémica en algunas zonas de Sudamérica
    (D) En los tejidos se identifican grandes levaduras monogemantes de pared gruesa, con conexiones amplias entre la levadura y la yema.
    (E) En todos los casos se necesita el tratamiento con anfotericina B

21. De las afirmaciones siguientes respecto a las dermatofitosis, ¿cuál es la correcta?
    (A) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Trichophyton rubrum*
    (B) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Trichophyton rubrum*
    (C) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Trichophyton rubrum*
    (D) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Trichophyton rubrum*

22. De las afirmaciones siguientes respecto a la paracoccidioidomicosis, ¿cuál no es correcta?
    (A) El agente etiológico es un hongo dimórfico
    (B) Muchos de los pacientes se contagian después de estar en Sudamérica
    (C) La infección se contagia por inhalación y comienza en los pulmones, pero muchos enfermos terminan por mostrar lesiones cutáneas y mucocutáneas.
    (D) La mayor parte de los sujetos con enfermedad activa son varones
    (E) De manera inherente el agente etiológico es resistente a la anfotericina B

23. Un paciente que ha recibido un riñón en trasplante presenta candidosis generalizada nosocomial, pero *Candida glabrata* aislada en el paciente es resistente al fluconazol. Una alternativa razonable sería la administración oral de:
    (A) Flucitosina
    (B) Posaconazol
    (C) Griseofulvina
    (D) Anfotericina B

24. De los antimicóticos siguientes, ¿cuál no afecta la biosíntesis del ergosterol en la membrana del hongo?
    (A) Voriconazol
    (B) Itraconazol
    (C) Terbinafina
    (D) Fluconazol
    (E) Micafungina

25. De las levaduras patógenas siguientes, ¿cuál no es un miembro frecuente de la flora humana normal o microbiota?
   (A) Candida tropicalis
   (B) *Malassezia globosa*
   (C) *Cyptococcus neoformans*
   (D) *Candida glabrata*
   (E) *Candida albicans*

RESPUESTAS

1. D	8. B	15. E	22. E
2. B	9. D	16. D	23. B
3. C	10. B	17. D	24. E
4. B	11. B	18. B	25. C
5. A	12. C	19. E	
6. D	13. D	20. D	
7. B	14. D	21. C	

BIBLIOGRAFÍA

Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA: *Clinical Mycology*. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2003.

Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, Caliendo AM, Mylonakis E: Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 2014;27:490.

Calderone RA (editor): *Candida and Candidiasis*. Washington, DC, ASM Press, 2002.

Cappelletty D, Eiselstein-McKitrick K: The echinocandins. *Pharmacotherapy* 2007;27:369.

Chen SC-A, Meyer W, Sorrell TC: *Cryptococcus gattii* infections. *Clin Microbiol Rev* 2014;27:980.

Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD: *Clinical Mycology*. New York, Oxford University Press, 2003.

Ferguson BJ (editor): Fungal rhinosinusitis: A spectrum of disease. *Otolaryng Clin N Am* 2000;33:1.

Galgiani JN, Ampel NM, Blair JE, *et al*.: Coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis* 2005;41:1217.

Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A (editors): *Cryptococcus. From Human Pathogen to Model Yeast*. Washington, DC, ASM Press, 2011.

Larone DH: *Medically Important Fungi. A Guide to Identification*. Washington, DC, ASM Press, 2011.

Latgé J-P, Steinbach WJ (editors): *Aspergillus fumigatus and Aspergillosis*. Washington, DC, ASM Press, 2008.

Merz WG, Hay RJ (editors): *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 10a. ed., vol. 4. *Medical Mycology*. London, Arnold, 2005.

Mitchell TG: Population genetics of pathogenic fungi in humans and other animals. In Xu J (editor): *Microbial Population Genetics*, Hethersett, UK, Horizon Scientific Press, 2010, pp. 139–158.

Mitchell TG, Verweij P, Hoepelman AIM: Opportunistic and systemic fungi. In Cohen J, Opal SM, Powderly WG (editors): *Infectious Diseases*, 3a. ed., vol. 2. London, Mosby, 2010, pp. 1823–1852.

Moen MD, Lyseng-Williamson KA, Scott LJ: Liposomal amphotericin B: a review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections. *Drugs* 2009;69:361.

Pasqualotto AC, Denning DW: New and emerging treatments for fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(Suppl 1):i19.

Perlroth J, Choi B, Spellberg B-J: Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol* 2007;45:321.

Pyrgos V, Shoham S, Walsh TJ: Pulmonary zygomycosis. *Semin Respir Critical Care Medicine* 2008;29:111.

Queiroz-Telles F, Esterre P, Perez-Blanco M, Vitale RG, Salgado CG, Bonifaz A: Chromoblastomycosis: an overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Med Mycol* 2009;47:3.

Reiss E, Shadomy HJ, Lyon III GM: *Fundamental Medical Mycology*. Hoboken, NJ. Wiley-Blackwell. 2012.

Richardson MD, Moore CB, Summerbell RC, Gupta AK: Superficial and subcutaneous fungal pathogens. In Cohen J, Opal SM, Powderly WG (editors): *Infectious Diseases*, 3a. ed., vol. 2. London, Mosby, 2010, pp. 1853-1867.

SECCIÓN VI PARASITOLOGÍA

CAPÍTULO 46

Parasitología médica

En este capítulo se proporciona un breve estudio de los parásitos protozoos y helmintos de importancia médica. La descripción de cada uno incluye una sinopsis en forma de cuadros organizados por sistemas orgánicos infectados (p. ej., infecciones por protozoos o por helmintos, tanto de intestinos como de sangre y tejidos). Al comenzar las secciones sobre protozoos y helmintos se proporcionan conceptos básicos para que el lector cuente con un panorama de los ejemplos más importantes en la parasitología clínica. Los datos actualizados de esta información pueden encontrarse en el sitio web de los *Centers for disease control and prevention* (CDC) www.cdc.gov/ncidod/dpd.

CLASIFICACIÓN DE LOS PARÁSITOS

Los parásitos que se describen en este capítulo se dividen en dos grandes grupos, los **protozoos**y **los helmintos**.

Los **protozoos** son células eucariotas unicelulares que forman un reino completo. Clasificar a los protozoos parásitos en grupos taxonómicos es una tarea constante y los datos de esta categoría siempre cambian. Por tal razón, este capítulo diferencia los protozoos parásitos en cuatro grupos tradicionales con base en sus medios de locomoción y su forma de reproducción: flagelados, amebas, esporozoos y ciliados. El cuadro 46-1 incluye algunos protozoos parásitos de importancia clínica, subdivididos con base en los sistemas orgánicos que infectan, los mecanismos de infección, el diagnóstico, el tratamiento y la localización geográfica.

1) Los **flagelados** tienen uno o más flagelos similares a un látigo, y en algunos casos una membrana ondulatoria (p. ej., tripanosomas); éstos incluyen los flagelados de vías intestinales y genitourinarias (*Giardia* y *Trichomonas*, de manera respectiva) y los que penetran en la sangre y los tejidos (*Trypanosoma* y *Leishmania*); 2) las **amebas** tienen esa forma ameboide característica y utilizan seudópodos o flujo protoplásmico para desplazarse. En los seres humanos están representados por especies de *Entamoeba, Naegleria* y *Acanthamoeba;* 3) los **esporozoos** muestran un ciclo vital complejo en que alternan fases reproductivas sexual y asexual. En los parásitos de humanos *Cryptosporidium,* Cyclospora y *Toxoplasma* y los del paludismo (especies de *Plasmodium*), son intracelulares; 4) los **ciliados** son protozoos complejos que tienen cilios distribuidos en hileras o zonas localizadas y cada individuo posee dos tipos de núcleos. El único representante de este grupo que afecta a seres humanos es el parásito *Balantidium coli*, un ciliado intestinal gigante que también habita en cerdos, y dado que su ataque es raro, no se le expone en este capítulo.

Los **microsporidios**, antes clasificados como esporozoos porque poseen filamentos polares dentro de una espora, incluyen más de 1 000 especies de parásitos intracelulares que infectan hospedadores invertebrados (insectos, en su mayor parte) y vertebrados. En los seres humanos, los microsporidios son parásitos oportunistas que afectan a pacientes inmunodeprimidos, incluidos quienes reciben quimioterapia y algún órgano en trasplante.

Desde hace mucho se consideró como protozoo parásito *Pneumocystis jiroveci,* pero se ha demostrado que es un miembro del grupo de los hongos y no de los protozoos; causa neumonitis intersticial por plasmocitos en pacientes inmunodeprimidos y se le considera como un patógeno oportunista.

Los **helmintos parásitos**, o gusanos de seres humanos, pertenecen a dos tipos: nematodos (vermes redondos) y platelmintos (vermes planos).

1) Los **nematodos** constituyen un tipo de organismos con muchas especies y que afectan animales diversos. Su aspecto es alargado y ahusado en ambos extremos; en el corte transversal son redondos y no segmentados. Poseen sólo un conjunto de músculos longitudinales que les permiten desplazarse de manera penetrante como un látigo; un aparato digestivo

CUADRO 46-1 Sinopsis de infecciones por protozoos, organizadas por órganos y sistemas

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Protozoos intestinales					
Giardia lamblia (flagelado) Giardiosis	Intestino delgado	Ingestión de quistes en el agua, no los destruye la cloración normal	Estudio de heces en busca de huevos y parásitos; práctica de EIA, en busca de antígenos	Metronidazol o nitazoxanida	Distribución amplia: campistas, en centros de esquí, perros, animales salvajes y en particular castores.
Entamoeba histolytica (ameba) Amebosis	Colon; hígado; otros órganos	Ingestión de quistes por contaminación de agua o alimentos con heces, o práctica de sexo bucal-anal	Estudio de las heces en busca de huevos y parásitos; práctica de EIA en busca de anticuerpos y antígenos	Yodoquinol, o paromomicina	Todo el planeta, siempre que se produzca contaminación con heces.
Cryptosporidium (esporozoo) Criptosporidiosis	Intestino delgado; vías respiratorias	Ingestión de ovoquistes; contaminación por heces	Estudio de heces/tinción, en busca de microorganismos acidorresistentes; tinción por fluorescencia directa; práctica de EIA en busca de antígenos	Nitazoxanida para personas no infectadas por VIH	Distribución muy amplia, en particular en zonas ganaderas
Cyclospora (esporozoo) Ciclosporidiosis	Intestino delgado	Ovoquistes por contaminación de agua con heces; productos vegetales	Estudio de heces; tinción en busca de microorganismos acidorresistentes, microscopia por fluorescencia UV	Trimetroprima/sulfametoxazol	A nivel mundial, trópicos y zonas subtropicales
Protozoos transmitidos por contacto sexual					
Trichomonas vaginalis (flagelados) Tricomonosis	Vagina; los varones por lo común no muestran síntomas	Los trofozoitos pasan de una persona a otra por coito o actividad sexual	Examen microscópico de secreción, orina y tejido obtenido por raspado	Metronidazol en ambos participantes	Muy frecuente en poblaciones sexualmente activas
Flagelados de sangre y tejidos					
Trypanosoma brucei rhodesiense Tripanosomosis africana del este Enfermedad del sueño	Sangre y linfa	Picadura de mosca tse-tse (dolorosa) que lacera la piel y libera tripomastigotes	Tripomastigotes (vía extracelular) en frotis de sangre, LCR o material de aspiración de ganglio linfático; estudio serológico (CATT)	Etapa hemolítica: suramina ataque tardío del SNC: melarsoprol	África Oriental; antílopes de varios tipos constituyen reservorios animales de infección para el ser humano
Trypanosoma brucei gambiense Tripanosomosis de África Occidental Enfermedad del sueño	Sangre, linfa	Picadura de la mosca tse-tse (dolorosa) desgarra la piel y libera tripomastigotes	Tripomastigotes (extracelulares) en frotis de sangre, LCR o material de aspiración de ganglio linfático; estudio serológico (CATT)	Etapa hemolítica: pentamidina Ataque tardío del SNC: eflornitina	África Occidental; vegetación alrededor de ríos; humanos solamente (no es un trastorno zoonótico)
Trypanosoma cruzi Enfermedad de Chagas	Amastigotes intracelulares; corazón, ganglios parasimpáticos	Las heces de chinches hociconas se frotan en la zona de picadura o un ojo; transfusión de sangre; transmisión transplacentaria	Tripomastigotes (extracelular); en frotis de sangre; PCR; amastigotes intracelulares en biopsia de tejidos	Benznidazol	Norteamérica, Centro y Sur (los insectos viven en techos de paja y grietas de adobe de paredes)
Leishmania major *Leishmania tropica* Leishmaniosis cutánea	Piel; úlceras con bordes enrollados	La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudio histopatológico; cultivo y PCR de los microorganismos; prueba cutánea intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico, antimoniato de meglumina, pentamidina	Oriente Medio, India, África, Rusia

(*continúa*)

CUADRO 46-1 Sinopsis de infecciones por protozoos, organizadas por órganos y sistemas (*continuación*)

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Complejo de *Leishmania mexicana* Leishmaniosis cutánea	Piel; úlcera con borde enrollado	La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida en el borde de la úlcera; estudio histopatológico; cultivo y PCR de los microorganismos; prueba cutánea intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico; antimoniato de meglunina; pentamidina	México, Centro y Sudamérica; úlceras de chiclero en la oreja de los chicleros en Yucatán;
Leishmania aethiopica *Leishmania mexicana pifanoi* Forma diseminada o difusa de leishmaniosis cutánea	Piel; la anergia origina lesiones no ulceradas en todo el cuerpo	La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudios histopatológicos; cultivo y PCR de microorganismos, prueba cutánea intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico, antimoniato de pentamidina	Etiopía, Venezuela
Complejo de *Leishmania braziliensis* Leishmaniosis mucocutánea	Lesiones de la piel; puede destruir tejidos mucocutáneos de la cara y la boca	La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos, monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudios histopatológicos; cultivo en PCR de microorganismos; cutirreacción intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico, antimoniato de meglumina, anfotericina B	Brasil, Perú, Bolivia
Leishmaniasis donovani Kala-azar, Leishmaniosis visceral		La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos del bazo, hígado y médula ósea	Biopsia de bazo, hígado, material de aspiración de médula ósea; estudios histopatológicos; cultivo y PCR de microorganismos	Anfotericina B en liposomas, estibogluconato sódico , antimoniato de meglumina , anfotericina B	Leishmaniosis dérmica después de kala-azar uno a tres años después del tratamiento en India, Sudán, Sudán del Sur, Etiopía, Kenia y Brasil
Amebas hísticas					
Naegleria Acanthamoeba, Balamuthia Meningoencefalitis amebiana primaria (*Entamoeba histolytica*-amebosis; véase protozoos intestinales)	Cerebro, médula espinal, ojos	Nadar en agua dulce tibia, estanques, ríos, fuentes termales; las amebas libres penetran la membrana nasal, pasan al cerebro o en una herida o penetran el ojo (*Acanthamoeba*)	Trofozoitos en líquido cefalorraquídeo; sospecha clínica basada en el antecedente reciente de nadar o bucear en aguas tibias	Anfotericina B	Sitios en que sobreviven amebas libres en sedimentos de aguas dulces
Esporozoos de sangre y tejidos					
Plasmodium vivax Paludismo	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoitos en el hígado pueden causar recidivas	El mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoitos en el torrente sanguíneo; los parásitos penetran en el hígado y después en la sangre; el trastorno puede recidivar	Frotis de sangre en gota gruesa y fina; etapa anular; eritrocitos con puntos de Schüffner; Pruebas de Diagnóstico Rápidas (RDT)	[a]Vivax no complicado: cloroquina más primaquina (en casos en que no ha surgido resistencia); en otras situaciones quinina más doxiciclina o tetraciclina más primaquina contra recidiva	Mayormente en Asia, Latinoamérica, algunas áreas de África (rara en África Occidental),
Plasmodium falciparum Paludismo	Intracelular en eritrocitos	Mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoitos en el torrente sanguíneo; los parásitos penetran el hígado y después la sangre, no hay recidivas	Frotis de gota gruesa y fina de sangre; gametocitos en forma de plátano; anillos dobles en eritrocitos; Pruebas de Diagnóstico Rápidas (RDTs)	[a]Falciparum no complicado: Cloroquina (si no existe resistencia); en otra circunstancia artemeter/lumefantrina (Coartem, tratamiento combinado basado en Artemisina oral (ACT)	Especie predominante; trópicos a nivel mundial pero en particular en países de África sub-sahariana

(*continúa*)

CUADRO 46-1 Sinopsis de infecciones por protozoos, organizadas por órganos y sistemas (*continuación*)

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Plasmodium ovale Paludismo	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoitos en el hígado pueden ocasionar recidiva	El mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoitos en el torrente sanguíneo; los parásitos penetran el hígado y después en la sangre; puede haber recidiva	Frotis de gota gruesa y fina de sangre	Cloroquina (si el sujeto no es resistente); primaquina en caso de recidiva	Trópicos, África sub-sahariana
Plasmodium malariae paludismo	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoitos en hígado pueden ocasionar recidiva	El parásito penetra en el hígado por inoculación en el torrente sanguíneo por parte del mosquito infectado; no hay recidiva	Frotis de gota gruesa y fina de sangre	Cloroquina (si el sujeto no es resistente)	En todo el mundo
Plasmodium knowlesi Paludismo de primates	Intracelular en eritrocitos	El mosquito hembra *Anopheles* libera los esporozoitos en el torrente sanguíneo; los parásitos entran en el hígado, después en la sangre; aún no se han identificado hipnozoitos	Frotis de gota gruesa y fina de sangre	Cloroquina (si el sujeto no es resistente)	Sureste de Asia
Babesia microti Babesiosis	Intracelular en eritrocitos	Picadura de garrapata; transfusiones sanguíneas	Frotis de sangre; se forman tétradas (cruz de Malta) en el interior de eritrocitos	Clindamicina y además quinina; atovacuona y azitromicina	Estados Unidos, Europa
Toxoplasma gondii Toxoplasmosis	Intracelular, en SNC, médula ósea	Ingestión de parásitos en carne mal cocida, ingestión de ovoquistes de heces de gatos; vía transplacentaria; transfusión de sangre	Estudios serológicos (IgG y IgM)	Pirimetamina y sulfadiazina	A nivel mundial; áreas en que viven gatos y felinos

[a] Es importante revisar con regularidad las recomendaciones (Internet: www.cdc.gov/travel/).

[b] Consúltese el trabajo de Rosenthal PJ 2012 para una revisión del tratamiento antipalúdico.

Abreviaturas: CATT, Prueba de aglutinación de tarjeta, en busca de tripanosomas; SNC, sistema nervioso central; LCR, líquido cefaloraquídeo; EIA, enzimoinmunoanálisis; PCR, reacción en cadena de la polimerasa; RBC, eritrocito (red blood cell); RDT, Pruebas de diagnóstico rápidas.

completo adaptado de modo apropiado para la ingestión del contenido intestinal, las células, la sangre o productos de degradación celular del hospedador, y un aparato reproductor muy desarrollado diferenciado en sexos. De ellos se desprenden sus cutículas resistentes (descamación o muda) al pasar de larvas a formas adultas, y los huevos y las larvas están perfectamente adaptados para sobrevivir en el entorno externo. Muchas infecciones en seres humanos se adquieren por la ingestión de huevos o larvas de estos parásitos, pero las infecciones por nematodos también se producen por la participación de insectos vectores y penetración de la piel; **2)** los **platelmintos** son gusanos o vermes aplanados dorsoventralmente en el corte transversal, y son hermafroditas, con pocas excepciones. Todas las especies de importancia clínica pertenecen a dos clases: **trematodos** (duelas) y **cestodos** (tenias).

Los **trematodos**, en forma típica, son aplanados y su aspecto es foliáceo con dos ventosas musculares. Poseen un intestino bifurcado y músculos circulares y longitudinales; carecen de la cutícula característica de los nematodos y en vez de ella tienen un epitelio sincicial. Son hermafroditas, con excepción de los esquistosomas (duelas hemáticas), los cuales tienen vermes macho y hembra que coexisten acoplados dentro de los vasos sanguíneos finos de sus hospedadores.

El ciclo vital de los trematodos en los seres humanos comienza en forma típica cuando el individuo expulsa huevos del parásito y éstos llegan al agua potable a través de las heces o la orina. En ambas se desarrollan, eclosionan y liberan un miracidio ciliado que infecta a un caracol hospedador que es absolutamente específico para cada especie de la duela. Dentro del molusco, el miracidio se transforma en esporocisto, que contiene células germinales que llegarán finalmente a la etapa larvaria, la de las cercarias. Éstas salen del caracol, nadan y se enquistan en la forma de metacercarias en un segundo hospedador intermedio o en vegetación, según la especie. Muchas de las infecciones por duelas se adquieren por ingestión de las metacercarias. Sin embargo, las cercarias de los esquistosomas penetran directamente la piel de sus hospedadores y no se enquistan como lo hacen las metacercarias.

Los **cestodos** o tenias, son planos y poseen una serie de segmentos acintados (proglótides), que contienen las estructuras reproductivas masculina y femenina. Los cestodos adultos pueden llegar a tener 10 m de longitud y cientos de segmentos, y cada segmento liberará miles de huevos. En el extremo anterior de un cestodo adulto está el escólex, que suele poseer ventosas musculares, ganchos o estructuras que facilitan su capacidad de fijarse a la pared intestinal. Los cestodos adultos no poseen boca ni intestino y absorben los nutrientes de manera directa de su hospedador a través de su integumento.

El ciclo vital de los cestodos, a semejanza de los trematodos, suele ser indirecto (incluye uno o más hospedadores intermedios y otro más final). Los huevos son excretados con las heces e ingeridos por un hospedador intermedio (un invertebrado, como una pulga o un vertebrado como un mamífero); las larvas asumen algunas formas que son peculiares de cada especie, en el interior del hospedador intermedio (p. ej., el cisticerco en el caso de *Taenia solium*, o el quiste hidatídico en el caso de *Echinococcus granulosus*). Las larvas de cestodos por lo común son ingeridas y se transforman en un verme adulto en el intestino del hospedador final o definitivo.

INFECCIONES INTESTINALES POR PROTOZOOS

En los cuadros 46-2 y 46-3 se incluyen conceptos básicos sobre protozoos parásitos y protozoos en general. En el cuadro 46-1 se hace una sinopsis de las parasitosis por protozoos.

GIARDIA LAMBLIA (FLAGELADO INTESTINAL)

Microorganismo

Giardia lamblia (conocida también como *Giardia duodenalis* o *Giardia intestinalis*) es el agente causal de la giardiosis y único protozoo patógeno que aparece a menudo en el duodeno y en el yeyuno de los seres humanos. *Giardia* existe en dos formas: el trofozoito y el quiste. El primero es un microorganismo en forma de corazón, con cuatro pares de flagelos y tiene 15 μm aproximadamente, de longitud (figura 46-1A). El gran disco cóncavo para succión en la cara ventral hace que el microorganismo se adhiera con facilidad a las vellosidades intestinales. Al pasar los parásitos al colon, de manera típica se enquistan y aparecen en las heces (figura 46-1B). Éstos son elípticos, de pared gruesa, muy resistente y 8 a 14 μm de longitud; las formas inmaduras contienen dos núcleos y los quistes maduros cuatro.

CUADRO 46-2 Conceptos básicos sobre protozoos parasíticos

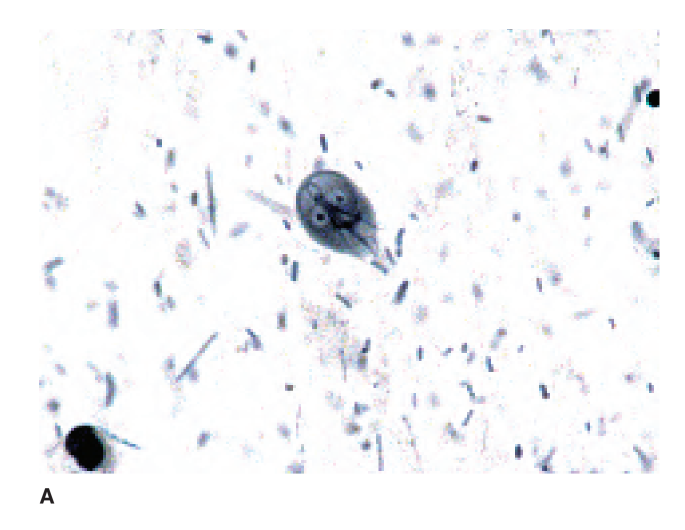
Los protozoos parasíticos tratados en este capítulo se agrupan en flagelados, amebas, esporozoos y ciliados.
Los flagelados y las amebas se multiplican por fisión binaria; los esporozoos se reproducen por un proceso conocido como merogonia (llamado también esquizogonia) en el cual hay réplica del núcleo antes de la citocinesis.
Los esporozoos (*Cryptosporidium, Plasmodium, Toxoplasma*) muestran recombinación sexual que culmina en variaciones genómica y antigénica.
Los protozoos se multiplican con rapidez (en cuestión de horas) en el hospedador y originan síntomas de comienzo rápido.
Las infecciones intestinales se producen por ingestión de un quiste ambientalmente resistente (u ovoquiste); las infecciones en la sangre dependen de vectores.
Es difícil tratar las infecciones por protozoos intracelulares (*Trypanosoma cruzi*, especies de *Leishmania, Cryptosporidium, Toxoplasma* y *Plasmodium*), porque los fármacos deben cruzar la membrana plasmática. No se cuenta con vacuna alguna contra las parasitosis de los humanos.
En el caso del *Toxoplasma* surgen infecciones latentes (los parásitos en los quistes tisulares reciben el nombre de bradizoitos), y por *Plasmodium vivax* y *P ovale* (los parásitos en los hepatocitos han sido llamados hipnozoitos)
En las infecciones por protozoos diseminadas surgen fiebre y síntomas similares a los del resfriado y son inespecíficos.
Algunos protozoos parásitos evaden la respuesta inmunitaria del hospedador porque son intracelulares, muestran variación antigénica o poseen ambas características.

CUADRO 46-3 Protozoos parásitos

Protozoos intestinales
- *Giardia lamblia* (flagelados)
- *Entamoeba histolytica* (amebas)
- *Cryptosporidium hominis* (esporozoos)
- *Cyclospora cayetanensis* (esporozoos)

Infecciones por protozoos transmitidos por vía sexual
- *Trichomonas vaginalis* (flagelados)

Infecciones por protozoos en sangre y tejidos
- Flagelados
  - *Trypanosoma brucei rhodesiense* y *Trypanosoma brucei gambiense*
  - *Trypanosoma cruzi*
  - *Leishmania donovani, Leishmania tropica, Leishmania mexicana*
- Amebas
  - *Entamoeba histolytica* (véase protozoos intestinales)
  - *Naegleria fowleri* y *Acanthamoeba castellanii*
- Esporozoos
  - *Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum, Plasmodium ovale* y *Plasmodium malariae*
  - *Babesia microti*
  - *Toxoplasma gondii*
- Microsporidios



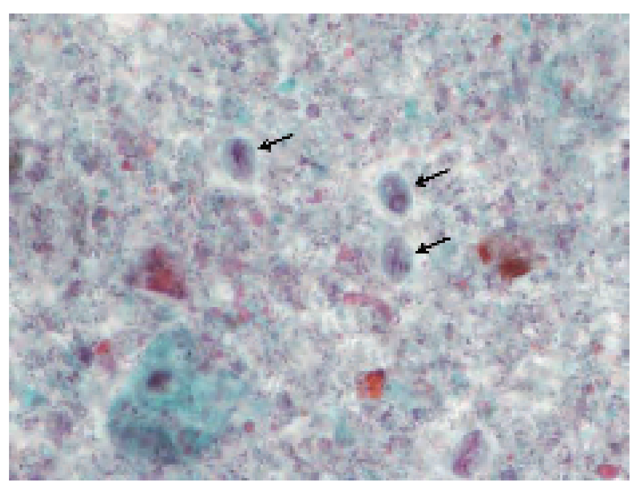


FIGURA 46-1 *Giardia lamblia*. **A:** Trofozoito (12-15 μm). (Reproducida con permiso de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology*, 8a. ed. 2009). **B:** Quiste (11-14 μm). (Con autorización de D. Petrovic, Microbiology Section, Clinical Laboratories, UCSF.)

Patogenia y anatomía patológica

G. lamblia por lo común tiene una débil capacidad patógena para los seres humanos. Es posible identificar quistes en gran número en las heces de personas totalmente asintomáticas. Sin embargo, en algunos individuos el gran número de parásitos fijados a la pared intestinal puede irritar e inflamar en forma mínima la mucosa del duodeno o del yeyuno, con desarrollo de diarrea aguda o crónica que depende de la hipertrofia de criptas, atrofia o aplanamiento de las vellosidades y daño de células epiteliales. El sujeto expulsa heces acuosas, semisólidas, grasientas (esteatorrea), voluminosas y fétidas en varias ocasiones en el transcurso de la infección. Pueden persistir por tiempo prolongado síntomas como malestar general, debilidad, pérdida de peso, cólicos abdominales, distensión y flatulencia. Se recomienda obtener múltiples muestras de heces en un lapso de varios días para incrementar la posibilidad de detectar por microscopia los quistes en frotis.

Epidemiología

G. lamblia está presente en todo el mundo. Las personas se infectan al ingerir agua o alimentos contaminados por heces que tienen quistes de giardia o por contaminación directa por dichas heces, como podría ocurrir en guarderías infantiles, campamentos de refugiados o asilos o durante el sexo bucal-anal. En instalaciones dedicadas al esquí en Estados Unidos se han notificado brotes epidémicos, en los cuales la sobrecarga de los sistemas de eliminación de aguas negras o la contaminación del abasto de agua potable ha originado brotes repentinos de giardiosis. Los quistes sobreviven en el agua hasta por tres meses. Los brotes en áreas silvestres entre campistas sugieren que los seres humanos pueden infectarse con diversas giardias de animales, presentes en roedores, ciervos, ganado vacuno, ovejas, caballos o mascotas.

ENTAMOEBA HISTOLYTICA (AMEBAS DE INTESTINO Y TEJIDOS)

Microorganismo

Los quistes de *Entamoeba histolytica* aparecen sólo en el interior del colon y en heces formadas o semiformadas; su tamaño varía de 10 a 20 μm (figura 46-2A). El quiste puede incluir una vacuola de glucógeno y cuerpos cromatoides (masas de ribonucleoproteínas), cuyos extremos de manera característica están redondeados (a diferencia de los cromatoides en astilla en quistes en desarrollo, de *Entamoeba coli*). En el interior del quiste se efectúa la división nuclear, por la cual el quiste adquiere cuatro núcleos y desaparecen los cuerpos cromatoides y las vacuolas de glucógeno. El diagnóstico en muchos casos depende de las características del quiste, porque los trofozoitos por lo común aparecen sólo en heces diarreicas en casos agudos y viven sólo unas horas.

El trofozoito ameboide es la única forma que aparece en los tejidos (figura 46-2B). Su citoplasma tiene dos zonas, una franja hialina externa y otra granulosa interna que puede contener

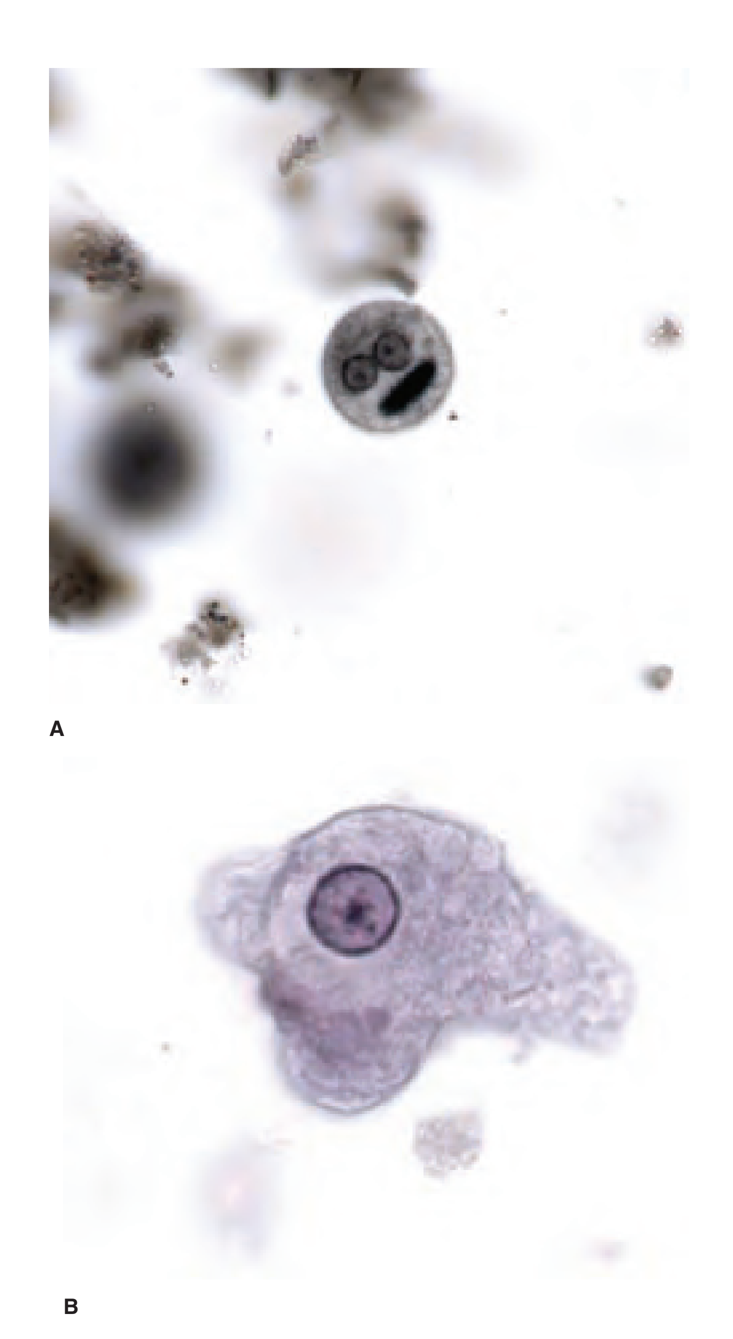


FIGURA 46-2 *Entamoeba histolytica.* **A:** Quiste (12-15 μm), con dos (de cuatro) núcleos y un cuerpo cromatoide. **B:** Trofozoito (10-20 μm). (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology*, 8a. ed. 2009.)

eritrocitos (signo patognomónico), pero por lo común no contiene bacterias. La membrana nuclear está revestida de gránulos finos regulares de cromatina, con un pequeño corpúsculo central (endosoma o cariosoma).

Patogenia y anatomía patológica de la amebosis invasora

Se calcula que cada año, en promedio, hay unos 50 millones de casos de enfermedades invasoras y, como resultado, mueren 100 000 personas (Marie and Petri, 2014). El cuadro patológico se manifiesta cuando los trofozoitos de *E. histolytica* invaden el epitelio intestinal y forman úlceras circunscritas que tienen un cuello relativamente estrecho y sobresalen por encima de la mucosa, lo que les da un aspecto de "botón de camisa" con bordes elevados y en la concavidad se acumulan moco, células necróticas y amebas. Los trofozoitos se multiplican y acumulan por arriba de la capa muscular de la mucosa y a menudo se extienden en sentido lateral; persiste esta extensión rápida de las amebas en fase de multiplicación, lo cual socava la mucosa y origina la clásica úlcera en "botellón de agua" propia de la amebosis primaria: un punto pequeño de penetración, al que sigue un cuello angosto a través de la mucosa y de ahí a una zona necrótica expandida en la submucosa. Para este momento por lo común no se produce la invasión bacteriana, la reacción celular es limitada y el daño ocurre por necrosis lítica.

En la propagación ulterior pueden confluir colonias de amebas y así socavan grandes áreas de la superficie mucosa. Los trofozoitos pueden penetrar las capas de músculo y a veces la serosa, lo cual culmina en perforación hacia la cavidad peritoneal. El ensanchamiento del área necrótica es causa de cambios manifiestos en la úlcera y en ella pueden aparecer bordes irregulares superpuestos, invasión bacteriana secundaria y acumulación de neutrófilos. Las lesiones secundarias en intestinos pueden surgir en la forma de extensiones de la lesión primaria (por lo común en el ciego, el apéndice, o una zona cercana del colon ascendente). Los parásitos pueden viajar a la válvula ileocecal y al íleon terminal y originar una infección crónica. En este tipo de lesiones los sitios más frecuentes son el colon sigmoide y el recto. En la pared intestinal se forma a veces una masa inflamatoria o granulomatosa amebiana (ameboma), que crece en ocasiones al grado de bloquear el interior del colon y el recto.

Entre los factores que favorecen la invasión por amebas están el número de parásitos ingeridos, la capacidad patógena de la subespecie parásita; factores del hospedador, como la motilidad intestinal y la inmunocompetencia, y la presencia de bacterias entéricas idóneas que estimulan la proliferación amebiana. Suele ser un problema de máxima importancia la identificación precisa y rápida de la especie de *Entamoeba*. La presencia de trofozoitos, en particular con eritrocitos en su citoplasma, presentes en las heces liquidas o semilíquidas, es un signo patognomónico.

Los síntomas y signos varían enormemente dependiendo del sitio y la gravedad de las lesiones. En la enfermedad grave se advierten dolor intenso del abdomen a la palpación, disentería fulminante, deshidratación e incapacidad. En la forma menos aguda, los síntomas comienzan de modo gradual y abarcan a menudo episodios de diarrea, cólicos abdominales, náusea y vómito, y un deseo urgente de defecar. A menudo durante semanas la persona presenta cólicos y molestias generales, anorexia y pérdida de peso con malestar generalizado. Los síntomas pueden aparecer y evolucionar en término de cuatro días de la exposición, y a veces lo hacen incluso un año después o quizá nunca.

La infección extraintestinal es de tipo metastásico y rara vez acaece por extensión directa desde el intestino. La forma mucho más frecuente es la hepatitis o el absceso hepático amebiano (4% o más de las infecciones clínicas), que supuestamente proviene de microémbolos, que incluyen trofozoitos transportados por la circulación porta. Se ha supuesto que los microémbolos hepáticos con trofozoitos constituyen un acompañamiento frecuente de las lesiones intestinales, pero

que las lesiones focales difusas rara vez evolucionan. Un absceso amebiano verdadero es progresivo, no supura (salvo que muestre infección secundaria) y es destructivo sin compresión ni formación de una pared. Su contenido es necrótico y bacteriológicamente estéril, y las amebas activas se circunscriben a las paredes. En el absceso se produce la característica "pasta de anchoas" que se identifica en el drenaje quirúrgico. Más de la mitad de los individuos con un absceso amebiano del hígado no señalan el antecedente de infección intestinal y en raras ocasiones los abscesos amebianos aparecen en otros órganos, (p. ej., pulmones, cerebro, bazo). Cualquier órgano o tejido en contacto con trofozoitos activos puede ser sitio de invasión y desarrollo de un absceso. El absceso hepático, que se manifiesta por una elevación de la mitad derecha de la cúpula diafragmática, puede identificarse por ecografía, tomografía computarizada, imágenes por resonancia magnética o gammagrafía. Los estudios serológicos en tales casos por lo común son fuertemente positivos.

OTRAS AMEBAS INTESTINALES

En la actualidad se considera que *E. histolytica* invasiva o patógena es una especie diferente de la variante comensal no patógena más común, *E. dispar,* que se aloja en los intestinos, y la denominación *E. histolytica* se reserva sólo para la forma patógena. *E. dispar* y *Entamoeba moshkovskii,* subespecie afín, según análisis de isoenzimas, genéticos y de PCR, son especies diferentes, a pesar de que su aspecto microscópico es idéntico. Es importante diferenciar *Entamoeba histolytica* no sólo de *E. dispar* y *E. moshkovskii,* sino también de otros microorganismos amebiformes que son parásitos intestinales de seres humanos: 1) *E. coli*, muy frecuente; 2) *Dientamoeba fragilis* (flagelado), que es el único parásito intestinal distinto de *E. histolytica*, que según se sospecha, origina diarrea y dispepsia, pero no es invasor; 3) *Iodamoeba bütschlii,* y 4) *Endolimax nana*. Se necesita enorme experiencia para diferenciar entre *E. histolytica* de las demás formas, pero es una medida necesaria, porque el diagnóstico erróneo origina tratamiento innecesario o excesivo, o que no se emprenda terapia alguna.

A nivel comercial, se encuentran disponibles equipos de enzimoinmunoanálisis (EIA, *enzyme immunoassays*) para serodiagnóstico de amebosis si no se detectan microorganismos en las heces. El equipo EIA para detectar el antígeno amebiano en las heces también es sensible y específico a *E. histolytica* y permite diferenciar entre infecciones patógenas y microorganismos no patógenos (Haque *et al*., 2003).

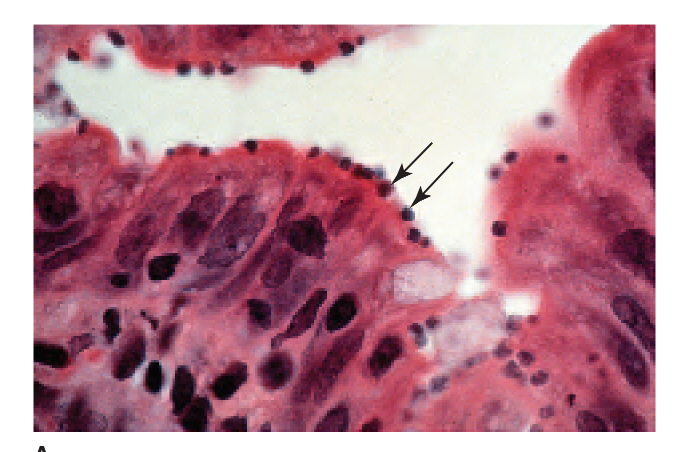
Epidemiología

E. histolytica es un microorganismo de distribución mundial predominantemente en países en desarrollo que muestran deficiencias en las prácticas sanitarias y la higiene. Las infecciones se trasmiten por la vía fecal-bucal; el sujeto suele ingerir los quistes que se encuentran en agua, verduras y alimentos contaminados; también se ha dicho que las moscas intervienen en la transmisión en áreas de contaminación por heces. Muchas infecciones son asintomáticas y el individuo asintomático que expulsa quistes (portador asintomático) constituye la fuente de contaminación de brotes en que el agua potable es contaminada por agua de albañales o hay transgresión de normas sanitarias (como en instituciones psiquiátricas, geriátricas, guarderías o bien prisiones).

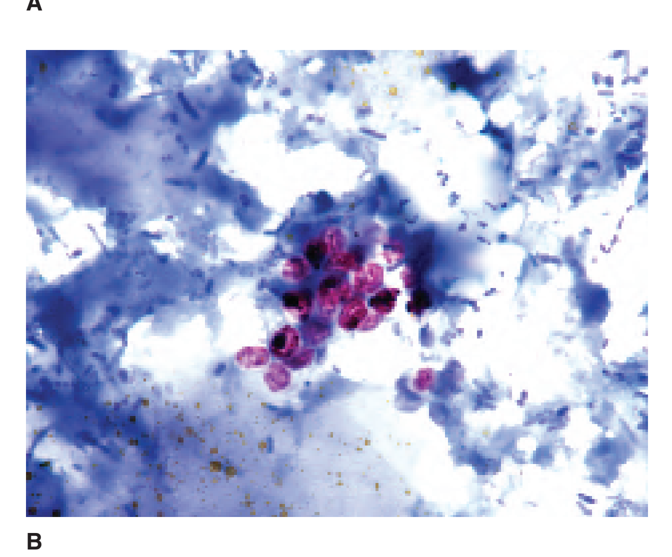
CRIPTOSPORIDIUM (ESPOROZOOS INTESTINALES)

Microorganismos

Algunas especies de ***Criptosporidium*** y en particular *C. hominis*, infectan el intestino de sujetos inmunodeprimidos (p. ej., los pacientes con sida) y causan diarrea intensa y resistente. Se les ha conocido desde hace mucho como parásitos de roedores, aves de corral, macaco de la India, ganado vacuno y otros herbívoros, y quizá constituya una causa inadvertida de gastroenteritis y diarrea leves y autolimitantes en seres humanos. Los enfermos expulsan por las heces numerosos ovoquistes de aproximadamente 4 a 5 μm, inmediatamente infectantes. Cuando una persona ingiere los ovoquistes a través de alimentos y agua contaminados, los esporozoitos salen del quiste e invaden las



A



B

FIGURA 46-3 *Crystosporidium.* **A:** Corte histológico de intestino con los microorganismos (*flechas*) en la zona apical de las células epiteliales. (Cortesía del Departamento de Patología, UCSF.) **B:** Los ovoquistes (4-5 μm) captan el color rosa en muestras de heces teñidas con un colorante acidorresistente. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

células intestinales; los parásitos se multiplican por un mecanismo asexual dentro de la porción apical de las células intestinales, son liberados e infectan a otras células de esa misma zona para comenzar un nuevo ciclo. También se reproducen de forma sexual y forman microgametos masculinos y otros femeninos que se fusionan y terminan por formar ovoquistes.

Patogenia y anatomía patológica

Cryptosporidium se localiza en el borde en cepillo de las células de la mucosa epitelial del tubo digestivo, en particular la superficie de las vellosidades del intestino delgado inferior (figura 46-3A). El signo clínico más notable de la enfermedad es la diarrea acuosa, de poca gravedad y que cede por sí sola (una a dos semanas) en sujetos sanos, pero que puede ser intensa y duradera en individuos inmunodeprimidos, niños pequeños o en adultos de edad avanzada. El intestino delgado es el órgano infectado con mayor frecuencia, pero se han detectado infecciones por *Cryptosporidium* en otros órganos, que incluyen otras zonas del aparato digestivo y los pulmones.

El diagnóstico depende de la detección de los ovoquistes en muestras de heces recién obtenidas. Por lo común hay que utilizar técnicas de concentración de ese material usando un colorante modificado para bacilos acidorresistentes, (figura 46-3B), y se encuentran disponibles estudios por medio de anticuerpos monoclonales que pueden detectar niveles muy bajos de antígeno en heces.

Epidemiología

El periodo de incubación de la criptosporidosis es de uno a 12 días, y el sujeto la adquiere de algún animal infectado, de heces de personas, o de alimentos o aguas contaminados por estas últimas. En el caso de personas de alto riesgo (p. ej., pacientes inmunodeprimidos, niños pequeños o adultos de edad avanzada), se necesita evitar el contacto con heces de animales y cumplir con gran cuidado las medidas sanitarias. Los microorganismos se diseminan de manera amplia y quizá afectan de forma asintomática a una fracción importante de la población humana. Brotes ocasionales, como el que surgió en Milwaukee a comienzos de 1993, en que hubo más de 400 000 personas afectadas, son consecuencia de protección o tratamiento inadecuados, o filtración de los abastos de agua potable para grandes centros urbanos. En el caso mencionado, al parecer los abastos de agua potable se contaminaron con estiércol de ganado de grandes granjas bovinas. Tan pocos como 30 microorganismos pueden desencadenar una infección; la capacidad del parásito para completar su ciclo vital, incluida la fase sexual en la misma persona permite que surjan a menudo infecciones fulminantes en personas inmunodeprimidas.

CICLOSPORA (ESPOROZOOS INTESTINALES)

Microorganismo

El ciclo vital de ***Cyclospora*** es semejante al de *Cryptosporidium* y al parecer incluye sólo un hospedador. Sin embargo, la diferencia entre una y otra subespecies es que los ovoquistes de *Cyclospora* no infectan de inmediato cuando se expulsan en las heces. A diferencia de los ovoquistes de *Cryptosporidium* que son infectantes en las heces, se necesita del transcurso de días o semanas para que los de *Cyclospora* sean infectantes, y ante tal situación, es posible que no se produzca la transmisión directa entre personas por medio de las heces. Las ciclosporosis se han vinculado con infecciones transmitidas por agua y alimentos, con varios tipos de productos frescos como frambuesas, mezcla de hojas de lechuga y albahaca desde el decenio de 1990 (Ortega y Sánchez, 2010).

Patogenia y anatomía patológica

La alteración de la estructura de la mucosa, acortamiento de las vellosidades intestinales, causadas por edema difuso e infiltración con células de inflamación, ocasiona diarrea, anorexia, fatiga y pérdida de peso. Los síntomas suelen durar un tiempo en personas no inmunes ni tratadas, pero al final ceden por sí solos y durante semanas o meses pasan por una fase de remisión y reaparición. El periodo de incubación en el caso de infecciones por *Cyclospora* es de una semana, en promedio, periodo semejante al de las infecciones por *Cryptosporidium*. Se necesita solicitar estudios específicos de laboratorio para identificar *Cyclospora* (lo mismo con *Cryptosporidium*) al buscar ovoquistes en las heces (8 a 10 μm), que son acidorresistentes (rojizos). A diferencia de las infecciones por *Cryptosporidium*, las infecciones por *Cyclospora* pueden tratarse con trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ, *trimethoprim-sulfamethoxazol*).

INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR PROTOZOOS

TRICHOMONAS VAGINALIS (FLAGELADO DE VÍAS GENITOURINARIAS)

Microorganismo

Trichomonas vaginalis existe sólo en la forma de trofozoito (no se conoce una etapa de quiste); posee cuatro flagelos libres que nacen de un solo pedículo y un quinto flagelo que forma una membrana ondulatoria. Es piriforme, y tiene en promedio 20 μm de largo y 10 μm de ancho.

Patogenia y anatomía patológica

T. vaginalis es un parásito de transmisión sexual y muchas infecciones son asintomáticas o de poca gravedad en mujeres y varones. En ellas, la infección por lo común se circunscribe a la vulva, la vagina y el cuello uterino, pero no abarca el útero. Las superficies mucosas pueden estar sensibles, inflamadas, erosionadas y cubiertas por una capa de secreción de color crema o amarillento, espumosa. En varones puede infectar la próstata, las vesículas seminales y la uretra. Los signos y síntomas en las mujeres, además de la secreción vaginal abundante, incluyen dolor local a la palpación, prurito y ardor en la vulva. En promedio, 10% de los varones infectados presentan una secreción uretral blanquecina y acuosa. El periodo de incubación va de cinco a 28 días.

CUADRO 46-4 **Comparación de las especies de *Trypanosoma* y de *Leishmania***

Hemoflagelados	Enfermedad	Vector	Etapas en seres humanos
Trypanosoma brucei rhodesiense	Enfermedad africana del sueño (aguda)	Mosca tse-tse	Tripomastigotes en la sangre
Trypanosoma brucei gambiense	Enfermedad africana del sueño (crónica)	Mosca tse-tse	Tripomastigotes en la sangre
Trypanosoma cruzi	Enfermedad de Chagas	Chinche hocicona	Tripomastigotes en sangre; amastigotes intracelulares
Especies de *Leishmania*	Leishmaniosis cutánea, mucocutánea o visceral	Mosca de arena	Amastigotes en el interior de macrófagos y monocitos

Epidemiología

T. vaginalis es un parásito que afecta tanto a varones como a mujeres, pero la infección es más común en mujeres que en varones. Se calcula que en Estados Unidos 3.7 millones de personas presentan la infección pero sólo un 30% se vuelve sintomático. El control de las infecciones por *T. vaginalis* obliga al tratamiento simultáneo de la pareja. Es necesario el uso de protección mecánica (condones) durante el coito hasta que quede erradicada la infección en la pareja.

INFECCIONES DE SANGRE Y TEJIDOS POR PROTOZOOS

HEMOFLAGELADOS

Los hemoflagelados de los seres humanos incluyen los géneros ***Trypanosoma*** y ***Leishmania*** (cuadro 46-4). Se conocen dos tipos particulares de tripanosomas de humanos: 1) el africano, que causa tripanosomosis africana y se transmite por moscas tse-tse (*Glossina*): *Trypanosoma brucei rhodesiense* y *Trypanosoma brucei gambiense*, y 2) americano, que causa la enfermedad de Chagas y es transmitido por chinches hociconas (*Triatoma*): *Trypanosoma cruzi*. El género *Leishmania* se divide en especies que infectan a seres humanos; causa la leishmaniosis cutánea (úlcera de Oriente), la mucocutánea (espundia) y la visceral (kala-azar); todas estas infecciones se transmiten por flebótomos (*Phlebotomus* en Europa y *Lutzomyia* en América).

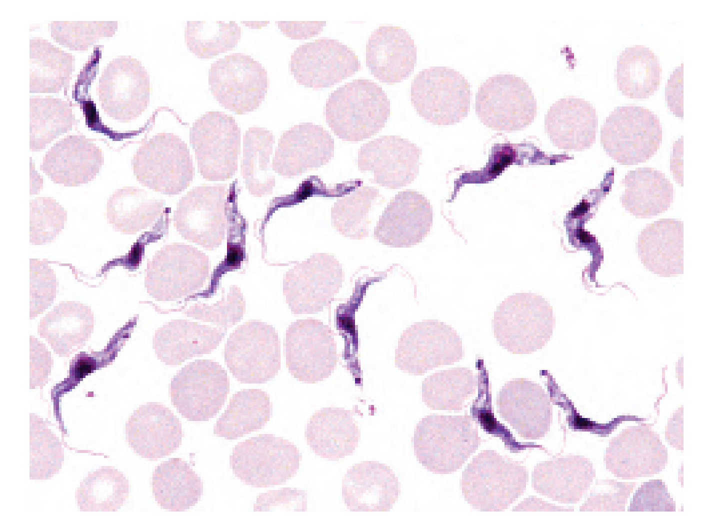


FIGURA 46-4 *Trypanosoma brucei gambiense* (o *Trypanosoma brucei rhodesiense*, idénticos en la práctica) (14-35 μm) en frotis de sangre (eritrocitos = 10 μm). (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology*, 8a. ed. 2009.)

TRYPANOSOMA BRUCEI RHODESIENSE Y *TRYPANOSOMA BRUCEI GAMBIENSE* (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismos

Los miembros del género *Trypanosoma* aparecen en la sangre como tripomastigotes, cuyo cuerpo alargado tiene una membrana ondulatoria lateral longitudinal y un flagelo, muy junto al borde libre de la membrana y que emerge en el extremo anterior en la forma de una extensión a manera de látigo (figura 46-4). El cinetoplasto (DNA circular dentro de la mitocondria única) es un corpúsculo de color oscuro muy junto al cuerpo basal, del cual surge el flagelo. ***T. brucei rhodesiense***, ***T. brucei gambiense*** y *Trypanosoma brucei brucei* (que origina la tripanosomosis africana llamada nagana en ganado y animales de caza), son prácticamente idénticos en su morfología, pero muestran diferencias en sus aspectos bioquímico, ecológico y epidemiológico.

Patogenia y anatomía patológica

Los tripanosomas infectantes de los géneros *T. brucei gambiense* y *T. brucei rhodesiense* se introducen por la picadura de la mosca tse-tse; se multiplican en el sitio de la inoculación y causan induración e hinchazón variables (lesión primaria) que evoluciona hasta formar un chancro tripanosómico. Las formas africanas se multiplican de modo extracelular, en la forma de tripomastigotes en la sangre y también en los tejidos linfoides. Se propagan a los ganglios linfáticos, al torrente sanguíneo y en etapas terminales, al sistema nervioso central (SNC), y ocasionan el típico síndrome de tripanosomosis africana: lasitud, imposibilidad para consumir alimentos, consunción hística, inconsciencia y muerte.

La afectación del SNC caracteriza más bien a la tripanosomosis africana. *T. brucei rhodesiense* aparece en el líquido cefalorraquídeo (LCR) aproximadamente al mes de comenzado el cuadro y *T. brucei gambiense* en cuestión de meses, pero ambos en pequeñas cantidades. La infección por *T. brucei gambiense* es crónica y origina meningoencefalitis difusa progresiva; en cuestión de uno o dos años el sujeto muere por el síndrome de la tripanosomosis africana. El ataque por *T. brucei rhodesiense*, que es mortal a menor plazo, origina somnolencia y coma solamente en las semanas finales de la infección terminal. Los tripanosomas pueden transmitirse a través de la placenta y se observan infecciones congénitas en áreas hiperendémicas.

Los tripanosomas africanos del complejo *T. brucei* tienen como característica peculiar el presentar variación antigénica a través de una serie de glucoproteínas de superficie genéticamente controladas que cubren el área exterior del microorganismo (de glucoproteínas variantes de superficie [VSG, *variant surface glycoproteins*]). Oleadas sucesivas de parásitos en el torrente sanguíneo del hospedador están cubiertas con una capa diferente; este proceso depende de cambios genéticamente inducidos, de la glucoproteína de superficie. El parásito, gracias a la producción de diferentes membranas antigénicas superficiales, puede evadir la acción de los anticuerpos, que el hospedador genera en respuesta. Cada población disminuye, pero es sustituida en poco tiempo por otro tipo antigénico antes de que quede eliminada la anterior. Se piensa que cada tripanosoma tiene unos 1 000 genes VSG, ejemplo de la formación de un mosaico génico.

Epidemiología

La tripanosomosis africana está circunscrita a las zonas reconocidas en que proliferan las moscas tse-tse. El hábitat de *T. brucei gambiense* transmitida por *Glossina palpalis* de riberas, y otros vectores tse-tse de bosques húmedos, se extiende desde África Occidental a África Central y produce una infección relativamente crónica con ataque progresivo del SNC. *T. brucei rhodesiense,* transmitida por las especies de bosques y sabanas, *Glossina morsitans, Glossina pallidipes* y *Glossina fuscipes,* aparece en las sabanas orientales y del sureste de África con focos al oeste del lago Victoria. Causa un número menor de casos pero es una forma más virulenta. Antílopes de matorrales y de otro tipo pueden constituir reservorios de *T. brucei rhodesiense*, en tanto que los seres humanos son el reservorio principal de *T. brucei gambiense*. La erradicación depende de la identificación, el aislamiento y el tratamiento de sujetos con la enfermedad; del control del desplazamiento de personas que entran y salen de zonas en que habitan las moscas; del uso de insecticidas en vehículos, y de emprender medidas de erradicación de las moscas, en particular insecticidas dispersados por aire y de modificar su hábitat. Es difícil controlar el contacto con animales que sirven de reservorio y es poco útil un repelente de insectos contra las picaduras de las moscas tse-tse.

TRYPANOSOMA CRUZI (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismo

T. cruzi pasa por tres etapas en su desarrollo: epimastigotes en el vector, tripomastigotes (en el torrente sanguíneo) y la fase intracelular redondeada, el amastigote. Las formas hemáticas de *T. cruzi* se desarrollan en los comienzos de la etapa aguda y periódicamente en menor número; son los tripomastigotes con un gran cinetoplasto terminal redondeado en preparados teñidos, pero es difícil diferenciarlos morfológicamente de los tripanosomas africanos. Las formas hísticas, que surgen con mayor frecuencia en el miocardio, el hígado y el cerebro, se desarrollan en forma de amastigotes que se multiplican hasta integrar una colonia intracelular después de invadir la célula del hospedador o por fagocitosis del parásito (figura 46-5).

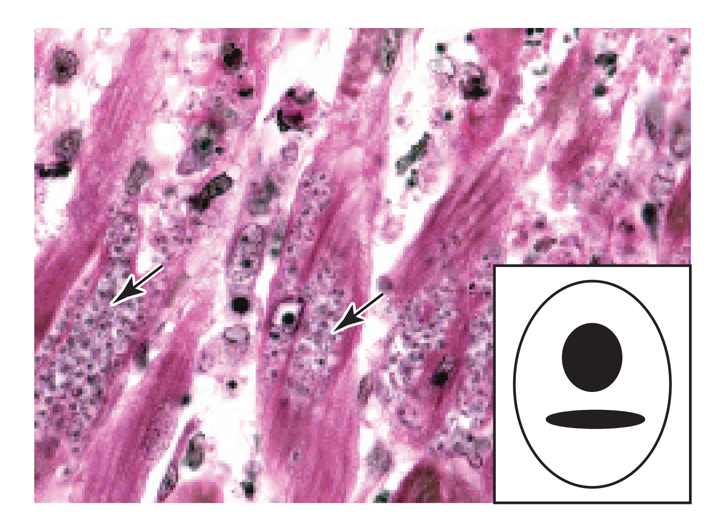


FIGURA 46-5 Colonia de amastigotes de *Trypanosoma cruzi* (*flechas*) en miocardio. Los amastigotes tienen 1-3 µm de diámetro en tejido. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.) Recuadro: esquema de un amastigoto con su característico "punto" (núcleo) y estructura ovoide (cinetoplasto).

Patogenia y anatomía patológica

Las formas infectantes de *T. cruzi* no se transmiten a los seres humanos por picaduras de triatómidos (que es el mecanismo de penetración de *T. rangeli* no patógeno); en vez de ello, se introducen cuando las heces defecadas infectadas del insecto son restregadas al interior de las conjuntivas, el punto de la picadura o una herida en la piel. En el sitio de penetración de *T. cruzi* puede formase un nódulo inflamatorio subcutáneo o chagoma. En los comienzos, particularmente en niños, surge de manera característica hinchazón palpebral unitaleral (signo de Romaña). La lesión primaria se acompaña de fiebre, linfadenitis regional aguda y diseminación del parásito a la sangre y los tejidos.

El trastorno grave más frecuente de la enfermedad de Chagas es la miocarditis intersticial. Otros órganos afectados son el hígado, el bazo y la médula ósea, en particular con la infección crónica por *T. cruzi*. La invasión o la destrucción tóxica de plexos nerviosos en las paredes del tubo digestivo ocasiona megaesófago y megacolon, en particular en la enfermedad de Chagas de la variedad brasileña. No aparecen las dos complicaciones mencionadas en la enfermedad de Chagas de tipos colombiano, venezolano y centroamericano. *T. rangeli* de Sudamérica y Centroamérica afecta a seres humanos sin causar enfermedad, y por esta razón es importante diferenciarla con gran cuidado de las especies patógenas.

Epidemiología

La tripanosomosis americana (enfermedad de Chagas) es especialmente importante en Centro y Sudamérica, aunque la infección de animales abarca zonas más amplias, por ejemplo hasta Maryland y el sur de California. En Texas y el sur de California han sido notificados unos cuantos casos autóctonos en personas. No se cuenta con tratamiento eficaz del trastorno y por ello asume trascendencia particular erradicar los vectores, a base de insecticidas de acción residual y modificación de su hábitat, como sustitución de viviendas hechas de adobe, con techos de paja en que viven los insectos, y evitar el contacto

con animales que actúan como reservorios. La enfermedad de Chagas afecta principalmente a personas de bajo estrato económico. Se ha calculado que siete a ocho millones de personas tienen el parásito, y muchas de ellas terminan por mostrar daño cardiaco, y como consecuencia disminución neta de su capacidad laboral y de esperanza de vida.

ESPECIES DE LEISHMANIA (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismos

Las moscas de arena transmiten los promastigotes infectantes, durante su picadura; ellos rápidamente se transforman en amastigotes después de ser fagocitados por macrófagos o monocitos, para multiplicarse y llenar el citoplasma de la célula. Las células infectadas se rompen y los parásitos liberados son fagocitados de nuevo; el proceso se repite y termina por causar una lesión cutánea o una infección visceral, según la especie del parásito y la reacción del hospedador. Los amastigotes son ovoides y tienen 2 a 3 μm de tamaño. El núcleo y el cinetoplasto de color oscuro, y cilíndrico fino, pueden observarse como si parecieran un "punto" y un "guión".

El género ***Leishmania***, distribuido ampliamente en la naturaleza, tiene especies cuya morfología es casi idéntica. Las características clínicas de la enfermedad son las que por costumbre se utilizan para diferenciarlas, pero se han identificado innumerables excepciones. Las leishmanias tienen muy diversas características clínicas y epidemiológicas que, por comodidad, se han combinado en tres grupos: 1) **leishmaniosis cutánea** (úlcera de Oriente, botón de Bagdad, úlcera húmeda o seca, úlcera de chicleros, uta y otros nombres); 2) **leishmaniosis mucocutánea** (espundia), y 3) **leishmaniosis visceral** (kala-azar, nombre en Hindi, dado a la fiebre negra).

Se advierten diferencias de cepas en aspectos como virulencia, tropismo por tejidos, además de características biológicas y epidemiológicas y también en lo tocante a criterios serológicos y bioquímicos. Algunas especies inducen síndromes patológicos graves (p. ej., la leishmaniosis visceral causada por los parásitos de la leishmaniosis cutánea o viceversa). En forma semejante, agentes diferentes pueden causar la misma entidad clínica.

Patogenia y anatomía patológica

Leishmania tropica, ***Leishmania major***, ***Leishmania mexicana***, ***Leishmania braziliensis*** y otras **formas cutáneas** inducen una lesión en la piel en el sitio de inoculación por la mosca de arena (leishmaniosis cutánea, úlcera de Oriente o de Delhi, y otras más). En primer lugar hay ataque de las capas de la piel con infiltración celular y proliferación intracelular de los amastigotes y propagación extracelular, hasta que la infección penetra la epidermis y la ulcera. Pueden surgir lesiones satélites (tipo de leishmaniosis cutánea por hipersensibilidad, o recidivante) en que los parásitos son escasos o no se detectan; no reaccionan fácilmente al tratamiento, y surge por inducción una potente reacción cicatrizal granulomatosa. En Venezuela, se conoce una forma cutánea diseminada causada por *L. mexicana pifanoi*. En Etiopía, una forma conocida como *Leishmania aethiopica* ocasiona de manera similar leishmaniosis cutánea propagada, sin úlceras y con ámpulas. Las dos formas típicamente son anérgicas y no reactivas a la introducción de la prueba de antígeno en la piel y contienen gran número de parásitos en las vesículas dérmicas.

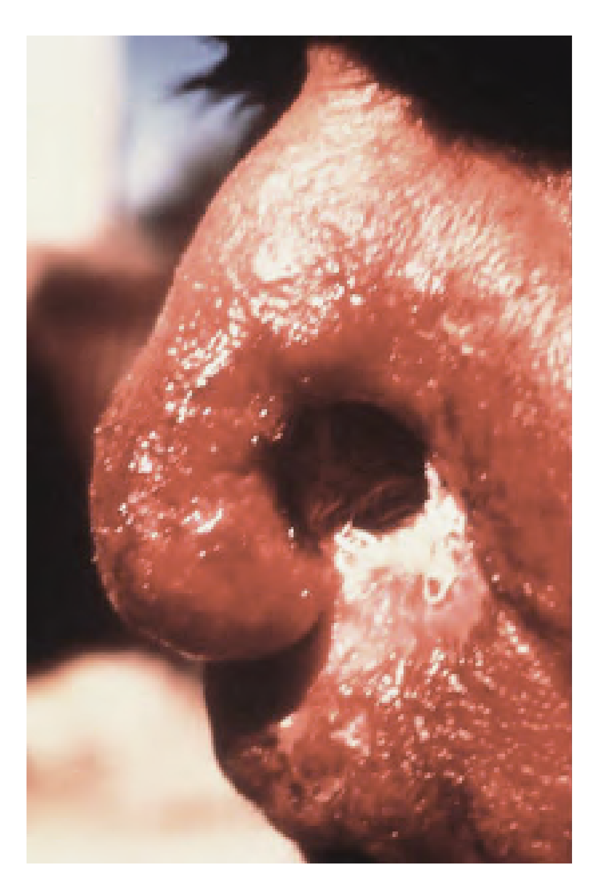


FIGURA 46-6 Paciente con espundia causada por *Leishmania braziliensis*. (Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TDR.)

Leishmania braziliensis braziliensis causa **leishmaniosis mucocutánea** o **nasofaríngea** en la zona amazónica de Sudamérica. Se le ha llamado con muchos nombres locales. Las lesiones crecen lentamente, pero son extensas (a veces tienen 5 a 10 cm). A partir de tales sitios es rápida la migración a las superficies mucosas de nasofaringe o paladar, en que durante años cesa el crecimiento de la lesión. Después de transcurridos meses o incluso más de 20 años, puede desarrollarse una erosión incesante que destruye el tabique nasal y regiones vecinas. En algunos casos el sujeto muere por asfixia debido al bloqueo de la tráquea, inanición o infecciones de vías respiratorias; todo lo anterior constituye el cuadro clásico de espundia (figura 46-6) que muy a menudo se detecta en la cuenca amazónica. A grandes alturas en Perú, los signos clínicos (uta) se asemejan a los de la úlcera de Oriente. La infección por *L. braziliensis guyanensis* se propaga por las vías linfáticas y en ellas asume la forma de una cadena lineal de lesiones no ulceradas. De manera típica, la infección por *L. mexicana* se circunscribe a una sola lesión ulcerosa, indolente, que cura en término de un año, aproximadamente, y deja una cicatriz circular hundida característica. En México y Guatemala, el trastorno suele afectar las orejas (úlcera de chicleros), por lo común con una infección que afecta el cartílago sin úlceras y con pocos parásitos.

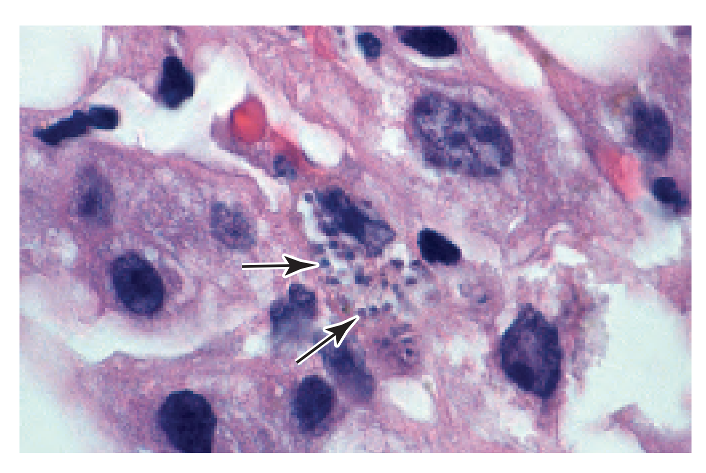


FIGURA 46-7 Amastigotes de *Leishmania donovani* (*flechas*), de un fragmento de biopsia de hígado. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

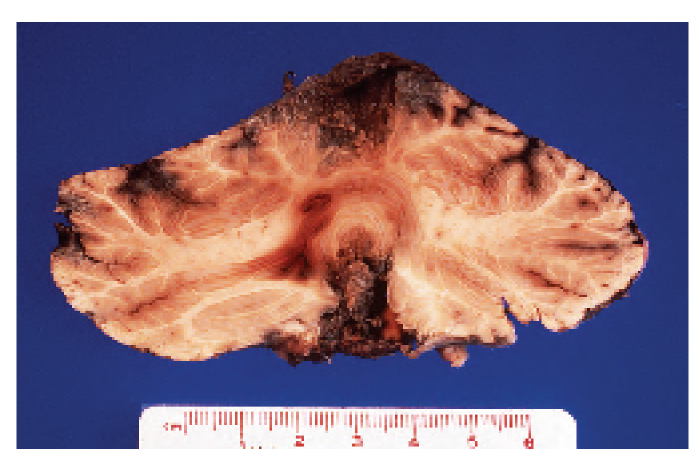


FIGURA 46-8 Zonas oscuras del cerebelo que corresponden a regiones de necrosis causadas por amebas *Naegleria fowleri*. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

Leishmania donovani que origina **leishmaniosis visceral** o kala-azar, se propaga desde los sitios de inoculación para multiplicarse en células reticuloendoteliales, en particular macrófagos, en el bazo, hígado, ganglios linfáticos y médula ósea (figura 46-7); todo ello incluye también notable hiperplasia del bazo. La emaciación progresiva se acompaña de debilidad cada vez más intensa y desarrollo de fiebre irregular, a veces acelerada. Sin tratamiento, las personas con síntomas de kala-azar por lo general mueren. Algunas formas, particularmente en India, terminan por mostrar una reaparición cutánea florida después de curación, con abundantes parásitos en las vesículas de la piel, uno a dos años más tarde (leishmanoide dérmico después de kala-azar).

Epidemiología

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se calcula que aproximadamente 1.3 millones de casos nuevos de leishmaniosis aparecen cada año con 20 000 a 30 000 muertes (WHO 2014).

La úlcera de Oriente afecta más bien regiones del Mediterráneo, norte de África y Oriente Medio y Próximo. El tipo "húmedo" causado por *L. major* es rural, y el reservorio principal lo constituyen roedores que cavan madrigueras. El tipo "seco" causado por *L. tropica* es urbano y probablemente el único reservorio sean los seres humanos. En el caso de *L. braziliensis* se han identificado diversos animales salvajes hospedadores, pero al parecer no existen animales domésticos que actúen como reservorio. En todas las formas las moscas de arena intervienen como vectores.

L. donovani aparece en forma focal en muchos países tropicales y subtropicales. Su distribución local depende de la prevalencia de moscas de arena como vectores específicos. En el litoral mediterráneo y en la zona media de Asia y en Sudamérica, los cánidos domésticos y salvajes son los reservorios, y en Sudán, lo son en el caso del kala-azar endémico, los carnívoros y los roedores salvajes. En lo que toca a las formas en India y Kenia no se han identificado animales que actúen como reservorios. La erradicación se orienta a la destrucción de criaderos y perros, si así conviene, así como a proteger a las personas de picaduras de moscas de arena.

ENTAMOEBA HISTOLYTICA (AMEBA HÍSTICA) CONSÚLTESE LA SECCIÓN DE INFECCIONES INTESTINALES POR PROTOZOOS

NAEGLERIA FOWLERI, ACANTHAMOEBA CASTELLANII Y BALAMUTHIA MANDRILLARIS (AMEBAS DE VIDA LIBRE)

Microorganismos

En Europa y Norteamérica aparecen casos de meningoencefalitis amebiana primaria (PAM, *primary amebic meningoencephalitis*) y encefalitis amebiana granulomatosa (GAE, *granulomatous amebic encephalitis*) por invasión amebiana del cerebro. Se ha dicho que intervienen como causales las amebas terrestres de vida libre ***Naegleria fowleri***, ***Acanthamoeba castellanii***, ***Balamuthia mandrillaris*** y posiblemente especies de *Hartmannella*. Muchos casos se relacionan con individuos que nadan y bucean en aguas cálidas y contaminadas con tierra (como estanques, ríos y aguas termales). Los individuos también se infectan después de irrigar sus senos nasales con agua contaminada al utilizar lavados nasales.

Patogenia y anatomía patológica

Las amebas, en particular *N. fowleri*, penetran por las vías nasales y la lámina cribosa del hueso etmoides para pasar en forma directa al tejido cerebral, donde forman rápidamente nidos de amebas que causan hemorragia y lesión extensa, principalmente en las zonas basales del cerebro y el cerebelo (figura 46-8).

El periodo de incubación varía de uno a 14 días, y entre los síntomas incipientes están cefalea, fiebre, letargia, rinitis, náusea, vómito y desorientación; se asemeja al cuadro de meningitis bacteriana aguda. En muchos casos el paciente entra en coma y fallece en término de una semana. El elemento clave para hacer el diagnóstico es la sospecha clínica basada en el antecedente reciente de nadar o bucear en aguas cálidas y estancadas.

La penetración de *Acanthamoeba* en el SNC se hace a través de úlceras cutáneas o traumatismos como serían la queratitis por la punción de la superficie corneal, o úlceras por el empleo de solución salina contaminada utilizada con lentes de contacto. La GAE es causada por *Acanthamoeba* y *Balamuthia* y por lo común afecta a sujetos inmunodeprimidos. La infección del SNC a partir de una lesión cutánea puede surgir semanas o meses después. Se le denomina GAE para diferenciarla de la infección cerebral rápida y explosiva por *Naegleria* (PAM). Se han obtenido buenos resultados con anfotericina B en unos cuantos enfermos, en particular en casos raros en los que el diagnóstico se puede hacer de manera rápida.

ESPECIES DE *PLASMODIUM* (ESPOROZOOS DE LA SANGRE)

El paludismo constituye, entre todas las parasitosis, la que mayor número de muertes causa. Más del 90% de las muertes en todo el mundo ocurren en África Sub-Sahariana. En 2012, se calculó que hubo más de 200 millones de casos de malaria y un aproximado de 627 000 muertes (con un rango de incertidumbre de 473 000 a 789 000); la mayoría de las muertes se presentaron entre niños menores de los cinco años de edad (WHO, Reporte mundial sobre Malaria, 2013).

Microorganismos

Existen cuatro especies principales de *Plasmodium* que causan el paludismo en seres humanos: el ***Plasmodium vivax***, ***Plasmodium falciparum***, ***Plasmodium malariae*** y ***Plasmodium ovale***. ***Plasmodium knowlesi***, que por lo general infecta macacos, ocasiona paludismo zoonótico en el sureste de Asia. Las dos especies que afectan con mayor frecuencia son *P. vivax* y *P. falciparum* y esta última es la más virulenta. Se transmite a los seres humanos por la picadura y succión de sangre de mosquitos *Anopheles* hembras (figura 46-9). En el cuadro 46-5 se resumen los aspectos morfológicos y otras características de estas especies y se ilustran en las figura 46-10 y 46-11 A-C.

La infección del ser humano es consecuencia de la picadura del mosquito *Anopheles* hembra infectado, a través de la cual se introducen en el torrente sanguíneo los esporozoitos; éstos rápidamente (por lo común en el término de 1 h) penetran en los hepatocitos en que se produce la primera etapa del desarrollo en las personas (fase exoeritrocítica del ciclo vital). Más adelante, los hijos asexuales innumerables, los merozoitos, se dispersan por rotura celular, salen de los hepatocitos, penetran en el torrente sanguíneo e invaden eritrocitos. Una vez en los eritrocitos, los merozoitos no retornan a los hepatocitos.

Los parásitos en los eritrocitos se multiplican por un mecanismo característico de cada especie, y rompen de manera sincrónica las células de sus hospedadores; ello constituye el ciclo eritrocítico en que aparecen a intervalos de 48 h grupos sucesivos de merozoitos (*P. vivax, P. falciparum* y *P. ovale*) y cada 72 h (*P. malariae*). Durante los ciclos eritrocíticos, algunos merozoitos penetran en los eritrocitos y se diferencian en gametocitos masculinos o femeninos. Por esta razón, el ciclo sexual comienza en el vertebrado hospedador, pero para que se continúe en la fase esporogónica es necesario que la hembra hematófaga de *Anopheles* succione e ingiera los gametocitos.

P. vivax y *P. ovale* pueden persistir como formas latentes o hipnozoitos, después de que los parásitos desaparecieron de la sangre periférica. Cuando los merozoitos provenientes de los

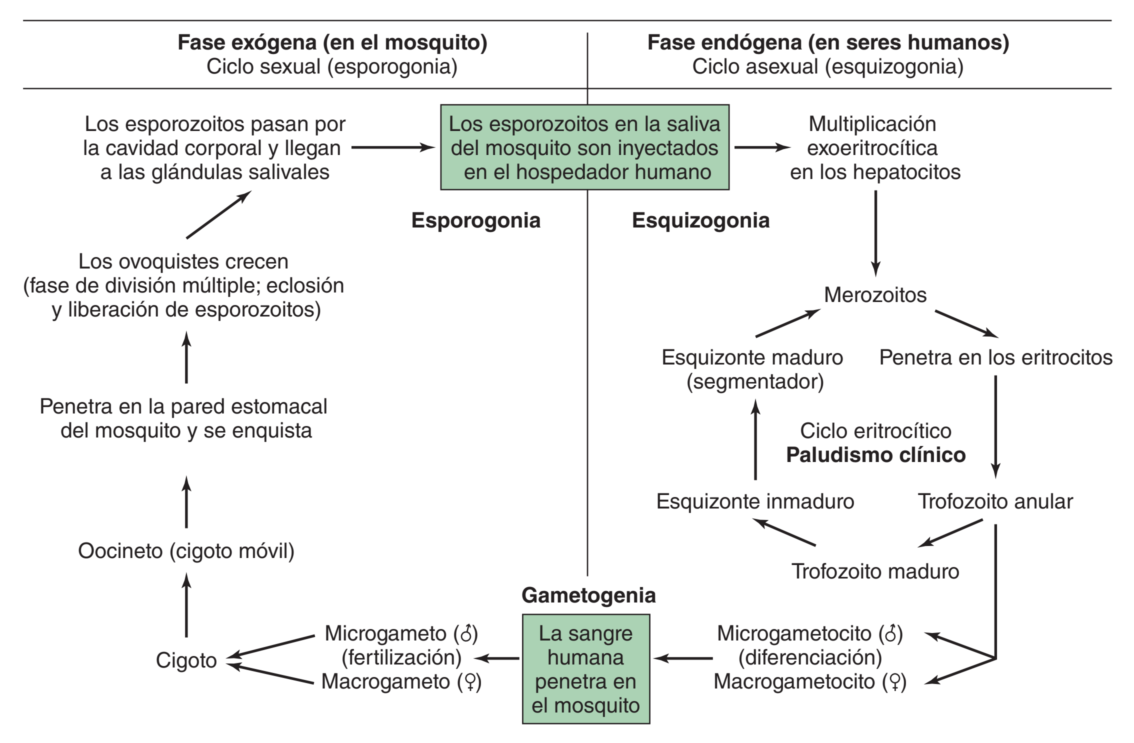


FIGURA 46-9 Ciclo vital del parásito del paludismo. Los ciclos continuos o el retraso de la multiplicación en el hígado pueden ocasionar recidivas periódicas en el curso de años (uno a dos años en el caso de *Plasmodium ovale*; tres a cinco en el de *Plasmodium vivax*). No se producen recidivas en el caso de *Plasmodium falciparum*, aunque puede haber un periodo largo antes de que se manifieste la enfermedad y como consecuencia los síntomas iniciales surgen incluso seis meses o más después de la exposición.

CUADRO 46-5 Algunas características de los parásitos del paludismo de seres humanos (preparados teñidos con el método de Romanowski)

	Plasmodium vivax	*Plasmodium falciparum*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium ovale*
Eritrocitos parasitados	Células agrandadas y pálidas con moteado fino (puntos de Schüffner). El parásito invade predominantemente reticulocitos que son eritrocitos jóvenes	No hay agrandamiento. Moteado grueso (hendiduras de Maurer). Invade todos los eritrocitos, independientemente de su edad.	No hay agrandamiento ni moteado (excepto con tinciones especiales). Invade predominantemente eritrocitos viejos	Células agrandadas y pálidas con puntos de Schüffner muy visibles. Las células suelen ser ovales con fimbrias o dentadas.
Nivel de parasitemia máxima usual	Incluso 30 000 parásitos/μl de sangre	Puede exceder de 200 000 parásitos/μl; comúnmente es de 50 000 μl	Menos de 10 000 parásitos/μl	Menos de 10 000 parásitos/μl
Trofozoitos en fase anular	Anillos grandes (1/3 a 1/2 del diámetro del eritrocito). Por lo común hay un solo gránulo de cromatina; el anillo es delicado	Anillos pequeños (1/5 del diámetro del eritrocito). A menudo hay dos gránulos; es común que las infecciones sean múltiples; los anillos son delicados y pueden adherirse a los eritrocitos	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo común hay un solo gránulo de cromatina; el anillo es grueso	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo común un solo gránulo de cromatina; el anillo es grueso
Pigmento en trofozoitos en fase de desarrollo	Fino; pardo claro; disperso	Grueso; negro; unos cuantos cúmulos	Grueso; pardo oscuro; grupos diseminados; abundante	Grueso; pardo amarillento oscuro; dispersos
Trofozoitos viejos	Muy pleomórficos	Compactos y redondeados[a]	Ocasionalmente se observan formas en banda	Compactos y redondeados
Esquizontes maduros (segmentadores)	Más de 12 merozoitos (14 a 24)	Por lo común más de 12 merozoitos (8 a 32). Muy raros en la sangre periférica[a]	Menos de 12 merozoitos grandes (6 a 12); a menudo se observa disposición en roseta	Menos de 12 merozoitos grandes (6 a 12); a menudo en disposición en roseta
Gametocitos	Redondos u ovales	Semilunares	Redondos u ovales	Redondos u ovales
Distribución en la sangre periférica	Todas las formas	Sólo anillos y formas semilunares (gametocitos)[a]	Todas las formas	Todas las formas

[a] Por lo común, en la sangre periférica infectada por *P. falciparum* se identifican solamente la fase anular o los gametocitos; después de la fase anular los eritrocitos quedan muy adherentes y tienden a quedar retenidos en los lechos capilares profundos, salvo en las infecciones sobreagudas por lo común letales.

hipnozoitos en el hígado se liberan y no experimentan fagocitosis en el torrente sanguíneo, reaparece la infección eritrocítica (recaída) y con ello surge de nuevo el cuadro clínico por la infección de los eritrocitos. Sin tratamiento, las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale* pueden persistir en la forma de recidivas periódicas, incluso durante cinco años.

Patogenia y anatomía patológica

El periodo de incubación del paludismo dura de nueve a 30 días, según la especie infectante. En lo que toca a *P. vivax* y *P. falciparum,* es de 10 a 15 días, pero puede ser de semanas o meses. El periodo de incubación de *P. malariae* es de unos 28 días, en promedio. El clínico debe sospechar la existencia de paludismo por *P. falciparum,* que puede ser mortal, si surge en cualquier momento fiebre con otros síntomas o sin ellos en cualquier fecha que abarque una semana después de la primera exposición posible a la enfermedad y dos meses (o incluso más) después de la última exposición posible. Los viajeros a áreas endémicas deberán ser advertidos de que si enferman con fiebre y síntomas parecidos a un resfriado común, mientras se encuentran de viaje o después de regresar a su lugar de origen, deberán buscar en forma inmediata atención médica y notificar a su médico su historial de viajes.

Las parasitemias por *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* son relativamente de poca gravedad, más bien porque los parásitos muestran predilección por eritrocitos jóvenes o viejos, pero no por ambos tipos de células; *P. falciparum* invade eritrocitos de cualquier edad, incluidos los eritroblastos en la médula ósea y por ello la parasitemia es muy intensa. *P. falciparum* también hace que los eritrocitos parasitados produzcan innumerables protuberancias que se adhieren al endotelio del interior de los vasos sanguíneos, y como consecuencia surgen obstrucción, trombosis e isquemia locales (Maier *et al*., 2008). Por las razones mencionadas, las infecciones por esa especie son mucho más graves que las originadas por los demás, con una cifra mucho mayor de complicaciones graves y a menudo letales (paludismo cerebral, hiperpirexia palúdica, trastornos gastrointestinales, paludismo álgido, fiebre hemoglobinúrica). Es de máxima importancia incluir al paludismo en el diagnóstico diferencial de individuos cuyo cuadro es sugerente, además de antecedente de haber viajado al área endémica, porque los retrasos en el tratamiento pueden ocasionar enfermedad grave o muerte por el paludismo de tipo falciparum.

Los paroxismos periódicos de paludismo guardan íntima relación con los fenómenos que tienen lugar en el torrente sanguíneo. El escalofrío inicial que dura 15 min a 1 h, comienza conforme la generación de parásitos que se dividen de manera sincrónica rompe los eritrocitos hospedadores y salen a la sangre. En ese momento suelen aparecer náusea, vómito y cefalea. La fase febril que sigue y dura varias horas, se caracteriza por fiebre intermitente que a menudo alcanza 40 °C o más. En esta

Etapas	Parásitos			
	Plasmodium vivax	*Plasmodium ovale*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium falciparum*
Etapa anular				
Trofozoito en desarrollo				
Esquizonte en desarrollo				
Esquizonte				
Microgametocito				
Macrogametocito				

FIGURA 46-10 Características morfológicas de fases del desarrollo de parásitos del paludismo en los eritrocitos. Se identifican los puntos de Schüffner citoplásmicos en las células agrandadas del hospedador, en las infecciones por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale*; el trofozoito en banda que se observa a menudo en infección por *Plasmodium malariae*, y los anillos pequeños por infección múltiple y los gametocitos en forma de banana en las infecciones por *Plasmodium falciparum*. De manera típica, los anillos y los gametocitos se identifican en frotis de sangre periférica obtenida de sujetos con infecciones por *Plasmodium falciparum*. (Con autorización de Goldsmith R, Heyneman D: *Tropical Medicine and Parasitology*. McGraw-Hill, 1989. ©The McGraw-Hill Companies, Inc.)

etapa, los parásitos invaden eritrocitos nuevos. La tercera fase o de hiperhidrosis concluye el episodio. La fiebre cede y la persona queda dormida y más tarde despierta con una sensación de bienestar relativo. En las etapas iniciales de la infección, los ciclos suelen ser asincrónicos y el patrón de la fiebre irregular; más tarde los paroxismos pueden reaparecer a intervalos regulares de 48 o 72 h, si bien los causados por *P. falciparum* puede durar 8 h o más y rebasar los 41 °C. Al evolucionar la enfermedad, pueden desarrollarse esplenomegalia y en menor magnitud, hepatomegalia. Surge anemia normocítica particularmente en el caso de las infecciones por *P. falciparum*.

Es posible detectar anemia normocítica de gravedad variable. Durante los paroxismos, se observa generalmente leucocitosis transitoria y más tarde surge leucopenia con un incremento relativo del número de células mononucleares grandes. En las pruebas de función hepática se obtienen resultados anormales durante los ataques, que se normalizan con el tratamiento o con la recuperación espontánea. En infecciones graves por *P. falciparum* el daño renal puede originar oliguria y el desarrollo de cilindros, proteínas y eritrocitos en la orina.

Epidemiología y erradicación

P. vivax y *P. falciparum* son las especies más comúnmente encontradas en los trópicos y subtrópicos, siendo *P. falciparum* la especie predominante en África. *P. vivax* presenta una distribución mayor que *P. falciparum* ya que es capaz de sobrevivir en altitudes mayores y en climas más fríos en el mosquito vector. Aunque *P. vivax* puede presentarse en toda África, el riesgo de infección es considerablemente menor debido a la

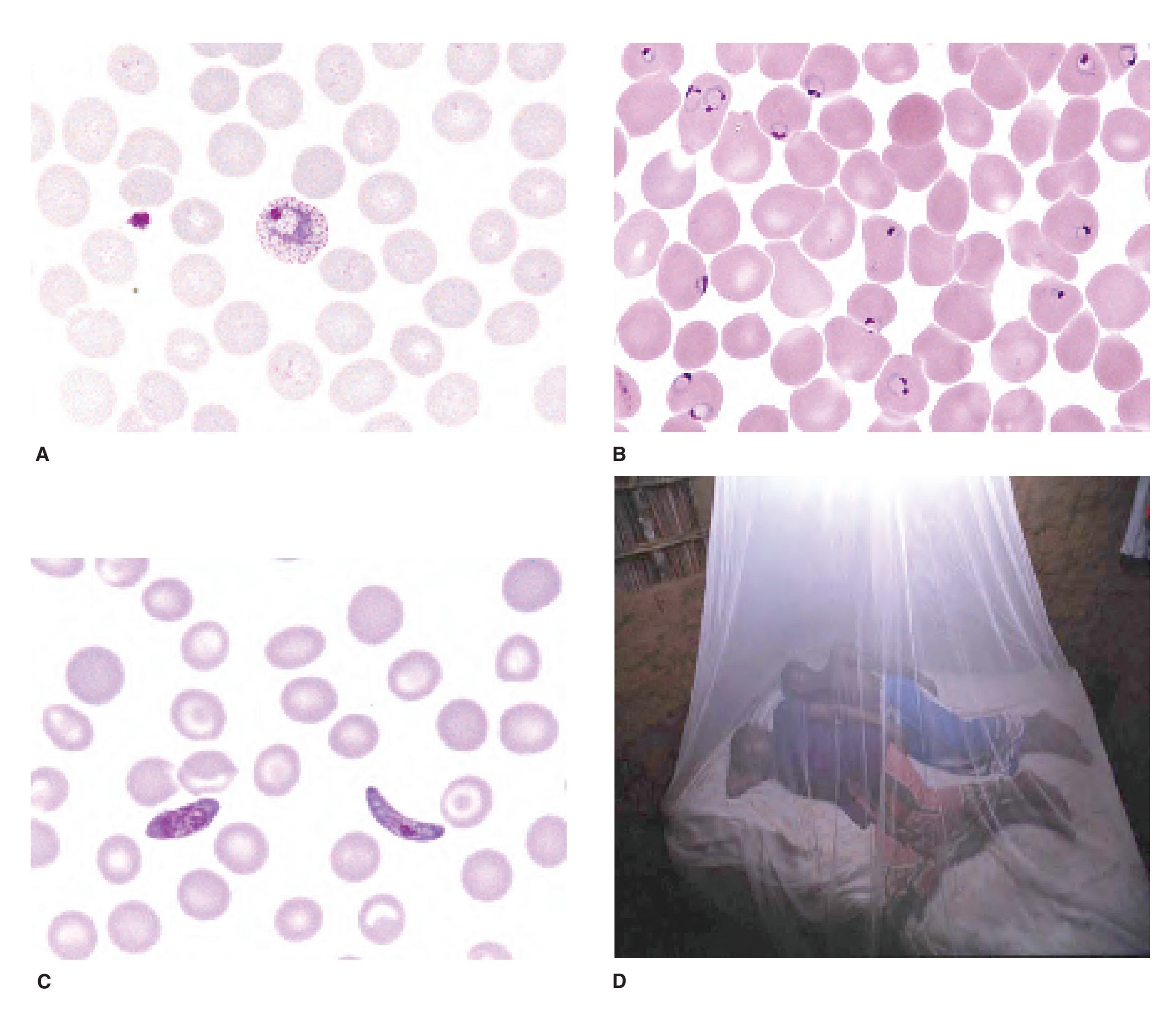


FIGURA 46-11 Características diferenciales entre los dos parásitos más comunes del paludismo. **A:** trofozoito de *Plasmodium vivax* dentro de un eritrocito, con puntos de Schüffner. **B:** anillos dobles, y **C:** gametocitos en forma de banana que de manera típica se observan en las infecciones por *Plasmodium falciparum*. **D:** los mosquiteros impregnados con insecticida constituyen una forma importante de protección contra los mosquitos que transmiten el paludismo. (**A-C:** con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology*, 8a. ed. 2009. **D:** Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TRD/Crump.)

baja frecuencia de la presencia del receptor Duffy, en la superficie de los eritrocitos, entre muchas de las poblaciones africanas (Mendes *et al*., 2011).

En Estados Unidos, el CDC informó cerca de 2 000 casos de paludismo en 2011, con *P. falciparum* y *P. vivax* como los causantes de la mayoría de las infecciones. Entre aproximadamente 1 400 casos para los cuales tanto el sitio de adquisición como la especie infectiva se conocían, la mayoría de los casos fueron ocasionados por *P. falciparum* adquirido en África (CDC, 2013).

Todas las formas palúdicas se transmiten por vía trasplacentaria, por transfusión de sangre o por agujas que comparten sujetos que abusan de drogas por vía endovenosa, cuando uno de ellos está infectado. Tales casos no incluyen una infección del hígado y por ello no hay recidivas. La infección natural (diferente de la causada por transmisión trasplacentaria) ocurre sólo con la picadura del mosquito hembra A*nopheles* infectado.

El control del paludismo depende de eliminar los criaderos de mosquitos y el uso de insecticidas, la protección personal contra tales insectos, p. ej., telas de alambre, mosquiteros tratados con insecticidas [figura 46-11D], ropas protectoras con mangas largas y pantalones largos, y repelentes, pruebas diagnósticas, vigilancia de la enfermedad, tratamiento adecuado combinado que utilice artemisina de calidad garantizada, así como tratamientos preventivos, principalmente en áreas de resistencia a fármacos (guías de tratamiento de los CDC, 2013). Una vacuna contra el paludismo, usada en conjunto con otras acciones, reducirá de manera exitosa la carga de morbilidad, además de ofrecer esperanza en interrupciones eventuales y erradicación en zonas específicas. Dos vacunas en fase de ensayos clínicos son 1) la vacuna PfSPZ, la cual es una vacuna atenuada, aséptica, purificada y criopreservada que consiste en esporozoitos de *P. falciparum* irradiados (Seder *et al*., 2013), y 2) la vacuna palúdica RTS S/AS01 que es una proteína recombinante del circumsporozoito (La asociación para el ensayo clínico RTS,S, 2014).

Para información sobre prevención y tratamiento se recomienda consultar el sitio web de los CDC (http://www.cdc.gov/malaria/travelers/index.html; CDC Malaria Hot Line at 770-488-7788 o marcar sin costo al 855-856-4713).

BABESIA MICROTI (ESPOROZOOS DE LA SANGRE)

La babesiosis, infección transmitida por garrapatas, es causada principalmente por ***Babesia microti*** que infecta a los eritrocitos. La mayor parte de las infecciones en personas inmunológicamente sanas son asintomáticas, pero en individuos afectados la enfermedad aparece siete a 10 días después de la picadura de la garrapata y se caracteriza por malestar general, anorexia, náusea, fatiga, fiebre, sudación excesiva, artralgias y depresión. La babesiosis humana es más intensa en los adultos de edad avanzada que en los jóvenes, en sujetos sin bazo y en pacientes de sida; en tales personas el cuadro puede asemejarse al del paludismo de la variedad *P. falciparum*, con fiebre alta, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia e insuficiencia renal; las infecciones a veces son mortales. En los sujetos, *Babesia* puede confundirse con *P. falciparum,* por la forma anular dentro de los eritrocitos, aunque un signo diagnóstico es el desarrollo de la "cruz de Malta" en los eritrocitos sin pigmento o la presencia de gametocitos.

TOXOPLASMA GONDII (ESPOROZOOS TISULARES)

Microorganismo

Toxoplasma gondii pertenece al grupo de esporozoos, con distribución a nivel mundial, que infecta animales y aves de diversas especies. Los hospedadores sanos finales son estrictamente los gatos y la familia Felidae; solamente en ellos acaece la etapa sexual productora de ovoquistes de *Toxoplasma*.

Los microorganismos (esporozoitos provenientes de ovoquistes o bradizoitos de los quistes hísticos) invaden las células de la mucosa del intestino delgado del gato, sitio en que forman esquizontes o gametocitos. Después de la fusión sexual de los gametos aparecen ovoquistes, que pasan al interior del intestino del gato desde las células hospedadoras y de ahí a las heces. En uno a cinco días, los ovoquistes resistentes a factores ambientales terminan por ser infectantes. Cuando ellos son ingeridos por el gato, los parásitos repiten su ciclo asexual y sexual. Si los ovoquistes son ingeridos por hospedadores intermedios como algunas aves, roedores o mamíferos, incluidos los seres humanos, los parásitos generan una infección, pero se reproducen sólo en forma asexual; en ese caso, el ovoquiste se abre en el duodeno del ser humano o del animal, y libera los esporozoitos que pasan a través de la pared intestinal, circulan en el organismo e invaden algunas células, en particular macrófagos, en donde forman trofozoitos, se multiplican, eclosionan y propagan la infección a ganglios linfáticos y otros órganos; estas células semilunares en multiplicación rápida (**taquizoitos**) inician la fase aguda de la enfermedad. Más adelante penetran en células nerviosas, particularmente del cerebro y los ojos, en donde se multiplican con ritmo lento (en la forma de bradizoitos) para formar quistes hísticos latentes y así comienzan la fase crónica de la enfermedad. Los quistes hísticos (llamados antiguamente seudoquistes) son infectantes cuando los ingieren los gatos (en ellos tiene lugar la fase sexual en intestinos y la producción de ovoquistes); cuando son ingeridos por otros animales se producen más quistes tisulares (fase asexual).

Patogenia y anatomía patológica

En los humanos, el microorganismo en cuestión produce toxoplasmosis congénita o posnatal. La primera forma, que se observa sólo cuando la mujer no inmune es infectada durante su embarazo, por lo común es muy intensa; suele ser menos intensa la toxoplasmosis posnatal. Muchas de las infecciones en seres humanos son asintomáticas. Sin embargo, en pacientes de sida pueden surgir infecciones fulminantes y mortales, tal vez por la transformación de una infección crónica en aguda. En personas inmunodeprimidas se observan a veces grados variables de la enfermedad que originan retinitis o coriorretinitis, encefalitis, neumonitis y otros trastornos.

El taquizoito destruye directamente las células y muestra predilección por células del parénquima y las del sistema reticuloendotelial. Los seres humanos son relativamente resistentes, pero a veces surge una infección leve en ganglios linfáticos, que se asemeja a la mononucleosis infecciosa. Al romperse un quiste hístico se liberan innumerables bradizoitos, y la reacción de hipersensibilidad local puede originar inflamación, bloqueo de vasos sanguíneos, y muerte celular cerca del quiste roto.

La infección congénita origina muerte fetal, coriorretinitis, calcificaciones intracerebrales, perturbaciones psicomotoras, hidrocefalia o microcefalia. En dichos casos, la mujer se infectó por primera vez durante el embarazo. La toxoplasmosis prenatal es una causa importante de ceguera y de otros defectos congénitos. La infección en el primer trimestre de la gestación suele culminar en óbito fetal o graves anomalías del SNC. Las que surgen en el segundo y tercer trimestres inducen daño neurológico menos intenso, aunque son más comunes. Las manifestaciones clínicas de las infecciones pueden retrasarse y surgir mucho después del nacimiento y aparecer incluso después de la niñez. Los efectos duraderos de la toxoplasmosis prenatal tardía pueden causar problemas neurológicos o dificultades del aprendizaje.

Epidemiología

Se debe evitar el contacto humano con las heces de gato ya que es un factor de importancia neta en el control de la enfermedad, particularmente en embarazadas con estudios serológicos negativos. Los ovoquistes por lo común necesitan 48 h para ser infectantes, de manera que el cambio diario de la arena en que defecan los gatos (y su eliminación segura) puede evitar la transmisión. Sin embargo, la embarazada debe evitar todo contacto con los gatos, en particular los cachorros. Una causa de gran importancia en la exposición de seres humanos es el consumo de carne cruda o mal cocida en la que están a menudo quistes hísticos infectantes. Los seres humanos (y otros mamíferos) se infectan por la invasión de ovoquistes en las heces de gatos o por quistes hístico en carne cruda o mal cocida. Para evitar el riesgo de toxoplasmosis, el *U.S. Department of Agriculture* (USDA) recomienda congelar la carne a –20 °C durante varios días o cocinarla a 63 °C (el pollo a 74 °C) y permitir que la carne repose por 3 min antes de su consumo. Durante el embarazo, la limpieza escrupulosa de la cocina, el lavado de manos después de tocar carne cruda y evitar el contacto con los gatos y la arena en

que defecan son elementos esenciales. Se recomienda la aplicación periódica de métodos serológicos disponibles para la identificación de anticuerpos de tipo IgG e IgM contra *Toxoplasma* (Guerrant *et al*., 2006; Montoya and Remmington, 2008).

MICROSPORIDIOS

Los **microsporidios** constituyen un conjunto peculiar de parásitos intracelulares que se caracterizan por una espora unicelular que contiene un filamento polar tubular a manera de resorte, a través del cual el esporoplasma es eliminado a presión y pasa a la célula hospedadora. La identificación de la especie y el género se basa en la morfología identificada en la microscopia electrónica de la espora, los núcleos y el filamento polar en resorte. Por medio del azul tricrómico modificado pueden ser detectados microsporidios en orina, heces y muestras nasofaríngeas. Todas las clases de vertebrados (en particular peces) y muchos grupos de invertebrados (en especial los insectos) muestran infección de prácticamente todos sus tejidos.

La transmisión se efectúa más bien por ingestión de las esporas en alimentos o agua. Es frecuente la transmisión trasplacentaria. Han sido pocos los casos en seres humanos, pero en sujetos con sida se han observado infecciones intestinales, oftálmicas y generalizadas. En la actualidad, los microsporidios se identifican, cada vez con mayor frecuencia, como parásitos oportunistas. Éstos se encuentran muy difundidos, en gran cantidad y no son patógenos en personas inmunológicamente sanas, pero constituyen una amenaza constante para sujetos inmunodeprimidos. A menudo coexisten con *Cryptosporidium* en pacientes de sida.

En personas inmunodeprimidas se han identificado las siguientes infecciones por microsporidios (predominantemente en enfermos de sida) (Guerrant *et al*., 2006). Infecciones oculares: *Encephalitozoon hellum, Vittaforma corneae* (*Nosema corneum*) y *Nosema ocularum*. Infecciones intestinales: *Enterocytozoon bieneusi* y *Encephalitozoon intestinalis*. En el caso de infecciones por *Encephalitozoon hellum, Encephalitozoon cuniculi*, especies de *Pleistophora, Bracheola vesicularam, Bracheola* (*Nosema*) *algerae, Bracheola* (*Nosema*) *connori*, o *Trachipleistophora hominis*, no se cuenta con tratamiento; afectan principalmente a enfermos de sida.

INFECCIONES INTESTINALES POR HELMINTOS

En los cuadros 46-6 y 46-7 de este capítulo se incluyen conceptos básicos sobre helmintos parásitos y los helmintos en general. En el cuadro 46-8 se hace una sinopsis de las helmintosis.

Se ha calculado que a nivel mundial 1 200 millones de personas están infectadas por *Ascaris lumbricoides*, el verme redondo gigante de los seres humanos; más de 700 millones de personas están infectadas por anquilostomas (*Ancylostoma duodenale* o *Necator americanus*); cerca de 800 millones están infectadas por tricuros (*Trichuris trichiura*) (ver el sitio web del CDC, www.cdc.gov/ncidod/dpd, "Parasitic Diseases").

Muchas de las helmintosis intestinales son benignas, excepto cuando el número de vermes es grande, y el de las formas adultas en el intestino llega a sumar cientos. En las infecciones del intestino por vermes, dicho órgano suele tener la forma adulta del parásito, excepto *Strongyloides*, *Trichinella* y *T. solium*, que además de estar en la forma adulta en ese órgano, también incluye larvas que migran a través de diversos tejidos.

Casi todas las infecciones por nematodos se contagian por la vía fecal-oral, y contribuyen a la transmisión comportamientos irregulares, así como deficiencias de sanidad e higiene. En el caso de las tres infecciones intestinales más frecuentes (por oxiuros, anquilostomas y ascaris), los huevos necesitan

CUADRO 46-6 Conceptos básicos sobre helmintos parásitos

Los helmintos parásitos cuyos datos se exponen en este capítulo se agrupan en nematodos, trematodos y cestodos.
Gran parte de las infecciones se adquieren por la ingestión de huevos o larvas con la excepción de los anquilostomas, oxiuros de seres humanos y esquistosomas, cuyas larvas penetran la piel y los filáridos transportados por vectores.
En términos generales, casi todas las infecciones intestinales por nematodos y cestodos acaecen por las formas adultas y no son muy patógenas, excepto si es muy grande el número de vermes. Gran parte de las alteraciones que ocasionan dependen de las etapas larvarias (como las microfilarias y las triquinas en el caso de los nematodos y los cisticercos y quistes hidatídicos en el caso de los cestodos).
En infecciones por trematodos, las alteraciones por lo común se vinculan con el parásito en su fase adulta, porque en ella afectan los tejidos humanos; por ejemplo, las duelas de hígado y de pulmón (las fases larvarias se producen en hospedadores animales o en otras fuentes). La excepción a las afirmaciones anteriores serían los esquistosomas o duelas de la sangre, que en etapas adultas viven en vasos sanguíneos, y cuyas alteraciones principales dependen de la presencia de huevos en los tejidos.
La eosinofilia es un signo fundamental de infección tisular por vermes parásitos.
Los signos patológicos de los nematodos que infectan tejidos dependen íntimamente de la respuesta del hospedador. La elefantiasis, un engrosamiento enorme y anormal de las extremidades, los senos y los genitales, es una reacción inmunopatológica a la presencia persistente por filarias como *Wuchereria* o *Brugia*.
Muchos helmintos no se multiplican por mecanismos asexuales en el hospedador humano: un huevo o una larva generan un verme. La excepción es *Echinococcus granulosus* que se multiplica en forma asexual en el interior de los quistes hidatídicos.
El único helminto intracelular es *Trichinella,* cuya fase larvaria acaece en el interior de un miocito (la célula nodriza).
Muchos vermes que se localizan en el interior del intestino pueden ser expulsados fácilmente, en tanto que los que se localizan en los tejidos, son difíciles de combatir con fármacos.
La gravedad de la enfermedad y los síntomas causados por las helmintosis, por lo común depende del gran número de vermes (p. ej., la anquilostomosis y la anemia).
La larva migratoria es el término utilizado cuando un nematodo en su fase larvaria que normalmente infecta un animal hospedador, migra y se desplaza en tejidos de humanos (p. ej., piel, vísceras y sistema nervioso central). El verme en su migración desencadena una intensa respuesta inmunitaria e induce el cuadro patológico. La larva migratoria se vincula con zoonosis en que los animales son los hospedadores sanos y los seres humanos se infectan de forma accidental.
La combinación de deficiencias sanitarias, comportamientos de humanos y climas tropicales culmina en la elevada prevalencia de infecciones por nematodos transmitidos por la tierra *(por Ascaris, tricocéfalos y anquilostomas).*

CUADRO 46-7 Helmintos parásitos

Helmintosis intestinales
Nematodos
Enterobius vermicularis (oxiuro)
Trichuris trichiura (tricocéfalo)
Ascaris lumbricoides (verme redondo de humano)
Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* (anquilostomas de humanos)
Strongyloides stercoralis (oxiuro del ser humano)
Trichinella spiralis
Trematodos
Fasciolopsis buski (duela intestinal gigante)
Cestodos
Taenia saginata (solitaria o tenia de las reses)
Taenia solium (tenia de los cerdos)
Diphyllobothrium latum (tenia ancha de peces)
Hymenolepis nana (tenia enana)
Dipylidum caninum (tenia de perros)
Helmintosis de sangre y tejidos
Nematodos
Wuchereria bancrofti (filariosis linfática)
Brugia malayi (filariosis linfática)
Onchocerca volvulus (ceguera de los ríos)
Dracunculus medinensis (gusano de Guinea)
Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* (roña de la tierra; véase Helmintosis intestinal)
Srongyloides stercoralis (larva currens; consúltese Helmintosis intestinales)
Trichinella spiralis (triquinosis por larvas; consúltese Helmintosis intestinales)
Larva migratoria (zoonosis por nematodos en fase larvaria)
Ancylostoma caninum (anquilostoma del perro)
Anisakis simples (anisacuosis)
Toxocara canis (verme redondo del perro)
Baylisascaris procyonis (gusano redondo del mapache)
Trematodos
Fasciola hepatica (duela del hígado de ovejas)
Clonorchis sinensis (duela hepática china)
Paragonimus westermani (duela pulmonar)
Schistosoma mansoni, Schistosoma japonicum, Schistosoma haematobium (duelas de la sangre)
Cestodos (infecciones causadas por larvas)
Taenia solium (cisticercosis/neurocisticosis; consúltese Helmintosis intestinal)
Echinococcus granulosus (quiste hidatídico)

ser incubados en la tierra por varios días o semanas en climas cálidos tropicales.

La costumbre de consumir alimentos crudos o poco cocidos contribuye a muchas de las infecciones por trematodos y cestodos; ellas se adquieren por la ingestión de hospedadores intermedios mal cocidos, que incluyen hortalizas, peces, carnes de res y de cerdo. La cocción y la congelación perfectas destruyen los parásitos y con ello evitan infecciones transmitidas por alimentos. Entre los factores que contribuyen a las infecciones por *Dipylidium canimun* y *E. granulosus* están el comportamiento de las personas y la convivencia muy cercana con mascotas.

ENTEROBIUS VERMICULARIS (OXIURO-NEMATODO INTESTINAL)

Microorganismo

Los **oxiuros** hembra (de unos 10 mm de longitud) tienen un extremo posterior delgado, en punta. Los machos tienen unos 3 mm de longitud y un extremo posterior curvo (figura 46-12A y B). Los oxiuros están distribuidos a nivel mundial, pero son más abundantes en climas templados, en comparación con los tropicales; constituyen la helmintosis más común en Estados Unidos e infectan predominantemente a niños.

Patogenia y anatomía patológica

El síntoma principal que surge en las oxiurosis es el prurito perianal, en particular en la noche, por la reacción de hipersensibilidad contra los huevos que el parásito hembra deposita en esa región y que migra desde el colon por la noche. El rascado de la región anal facilita la transmisión porque los huevos son muy infestantes en término de horas de haber sido expulsados (transmisión manual/bucal). La persona y en particular el niño, está irritable y fatigado por no dormir, pero la infección es relativamente benigna.

Los huevos se obtienen por medio de la técnica de "cinta adhesiva" transparente en la mañana, antes de una defecación. Se aplica la cinta directamente en el área perianal y después se lleva a un portaobjetos para estudio microscópico. Su aspecto se asemeja al de balones de fútbol americano, con una cubierta externa fina y tienen 50 a 60 μm de longitud (figura 46-12C). En el interior del huevo a menudo se identifica la larva infectante. Los pequeños vermes adultos a veces se detectan en el examen coproparasitoscópico de excrementos (huevos y parásitos). Los huevos son livianos y muy infectantes; por ello es importante lavar con agua caliente la ropa de cama, toallas y ropa interior, para evitar la reinfección.

TRICHURIS TRICHIURA (TRICOCÉFALO-NEMATODO INTESTINAL)

Microorganismo

Los **tricocéfalos** adultos hembras tienen 30 a 50 mm de longitud; los macho adultos tienen menor tamaño (figura 46-13A y B). El extremo anterior es delgado y el posterior más grueso y ello le confiere un aspecto de "látigo". Los tricocéfalos adultos viven en el colon y en él, los machos y las hembras se aparean. Ellas liberan huevos (figura 46-13C) que son expulsados en las heces y son infectantes después de unas tres semanas de incubación en tierra húmeda y sombreada. Los seres humanos se contagian al consumir alimentos contaminados con huevos infectantes. Una vez ingeridos los huevos, las larvas nacen en el intestino delgado, en donde maduran y migran al colon.

Patogenia y anatomía patológica

El extremo anterior de los vermes se aloja en la mucosa intestinal y causa hemorragias pequeñas con destrucción de las células de esa capa e infiltración de eosinófilos, linfocitos y plasmocitos. Las infecciones por un número pequeño de parásitos por lo común son asintomáticas, pero si el número es mediano o grande surgen dolor y distensión en la zona baja del vientre y diarrea. La infección intensa puede ocasionar diarrea sanguinolenta profusa, cólicos, tenesmo y prolapso rectal. A veces los vermes migran al apéndice y causan apendicitis.

CUADRO 46-8 Sinopsis de las helmintosis organizadas por sistemas orgánicos

Parásito/Enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Nematodos intestinales					
Enterobius vermicularis Oxiuro	Interior del ciego y colon	Ingestión de huevos; autocontaminación por comportamiento anal-oral	Prueba de cinta adhesiva; estudios microscópicos en busca de huevos	Pamoato de pirantel, mebendazol	Nivel mundial; áreas templadas
Trichuris trichiura Tricocéfalos	Ciego y colon	Ingestión de huevos por alimentos o tierra contaminados con heces	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Mebendazol, albendazol	Nivel mundial, frecuente
Ascaris lumbricoides Ascariosis, verme redondo común	Intestino delgado; migración de larvas por los pulmones	Ingestión de huevos por alimentos o tierra contaminados con heces	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, muy frecuente
Ancylostoma duodenale, Necator americanus Anquilostomiasis humana	Intestino delgado; larvas a través de piel y pulmones	Las larvas de la tierra penetran la piel	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, trópicos
Strongyloides stercoralis Estrongiloidosis del ser humano	Intestino delgado; larvas a través de la piel y pulmones	Las larvas de la tierra penetran la piel y en raras ocasionas hay autorreinfección interna	Coproparasitoscópico, estudio de esputo y de material de lavado bronquial en busca de huevos y parásitos (larvas)	Ivermectina, albendazol	Nivel mundial, zonas tropicales y subtropicales
Trichinella spiralis Triquinosis	Los adultos en intestino delgado se alojan durante 1 a 4 meses; las larvas se enquistan en tejido muscular	Consumo de carne de cerdo y otro animal, mal cocida e infectada	Estudios serológicos y biopsia de músculo (larvas)	Albendazol (y esteroides en caso de síntomas intensos)	Nivel mundial
Trematodos intestinales					
Fasciolopsis buski Duela intestinal gigante	Intestino delgado	Ingestión de metacercarias enquistadas en la vegetación acuática	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	Oriente y sudeste de Asia
Cestodos intestinales					
Taenia saginata Teniosis bovina	Intestino delgado	Ingestión de cisticercos enquistados en carne mal cocida de res	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	África, México, Estados Unidos, Argentina, Europa en donde se consume carne de res
Taenia solium Teniosis porcina (véase también cisticercosis)	Intestino delgado	Ingestión de cisticercos enquistados en carne mal cocida de cerdo	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial, en zonas en que se consume carne de cerdo, en particular México, América del Centro y Sur y Filipinas, sudeste asiático
Diphyllobothrium latum Tenia ancha de peces	Intestino delgado	Ingestión de larvas enquistadas en carne de pescado mal cocida	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos y proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial, en particular en zonas en las que se consume pescado crudo

(*continúa*)

apter 46_Carroll_4R.indd 725 15/04/16

CUADRO 46-8 Sinopsis de las helmintosis organizadas por sistemas orgánicos (*continuación*)

Parásito/Enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Hymenolepis nana Tenia enana	Intestino delgado	Ingestión de huevos de heces o agua contaminada; autorreinfección por la vía fecal/oral	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos, proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial
Dipylidium caninum Tenia del perro	Intestino delgado	Ingestión de larva en pulgas	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial
Infecciones tisulares por nematodos					
Wuchereria bancrofti, Brugia malayi Filariosis linfática	Vermes adultos en ganglios y conductos linfáticos	La picadura de mosquitos transmite las larvas	Frotis de sangre en busca de microfilarias	Dietilcarbamazina	Zonas tropicales y subtropicales, países subsaharianos, sudeste asiático, Pacífico Occidental, India, América del Sur y países del Caribe
Onchocerca volvulus *Oncocercosis* Ceguera africana de los ríos	Adultos en nódulos cutáneos	La picadura de simúlidos trasmite las larvas	Fragmentos de piel en busca de microfilarias; nódulos subcutáneos	Ivermectina	África tropical, América Central
Dracunculus medinensis Gusano de Guinea	Adultos en plano subcutáneo en piernas, tobillos y pies	Ingestión de agua contaminada con copépodos infectados	Gusano en ampolla cutánea	Extracción lenta del gusano alrededor de una varilla; extracción quirúrgica; tratamiento de la herida	Erradicación casi completa con excepción de unos cuantos países subsaharianos
Infecciones Zoonóticas					
Ancylostoma caninum y otros anquilostomas domésticos Larva migratoria CLM	Larvas migratorias subcutáneas	Contacto con tierra contaminada por heces de perro o gato	Exploración física y anamnesis	Albendazol, ivermectina,	Zonas tropicales y subtropicales
Anisakis simples Anisaquiosis (VLM)	Vías gastrointestinales: larvas en pared de estómago o intestino; rara vez penetra vísceras	Ingestión de larvas en preparados de carne de peces marinados, crudos o mal cocidos	Endoscopia, radiología; eosinofilia	Extracción quirúrgica o endoscópica del gusano	Nivel mundial donde las personas consumen peces crudos o mal cocidos
Especies de *Toxocara* Vermes redondos de perros y gatos (VLM, OLM, NLM)	Larvas que migran en vísceras, hígado, pulmones, ojos, cerebro	Ingestión de huevos por tierra contaminada con heces de perro o gato	Estudios serológicos, eosinofilia	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, áreas en que defecan gatos y perros
Baylisascaris procyonis Verme redondo de mapaches (VLM, OLM, NLM)	Vísceras, sistema nervioso central; las larvas migran a ojos y cerebro	Ingestión de huevos por heces de mapache	Estudios serológicos (CDC), eosinofilia, estudios neuroimagenológicos	Albendazol, mebendazol, corticosteroides	América del Norte, Europa, áreas en que defecan los mapaches (letrinas de mapaches)

(*continúa*)

CUADRO 46-8 **Sinopsis de las helmintosis organizadas por sistemas orgánicos (*continuación*)**

Parásito/Enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Infecciones tisulares por nematodos					
Fasciola hepatica Fasciolosis Duela hepática de ovejas	Vermes adultos en el hígado (conductos biliares después de migrar por el parénquima)	Ingestión de metacercarias en berros de agua, vegetación acuática	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Triclabendazol, bitionol	Nivel mundial especialmente en zonas ovejeras
Clonorchis sinensis Clonorquiosis Duela hepática china	Vermes adultos en el hígado (conductos biliares)	Ingestión de metacercarias por peces mal cocidos de agua dulce	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	China, Corea, Indochina, Japón, Taiwán
Paragonimus westermani Paragonimosis Duela pulmonar	Vermes adultos en pulmones	Ingestión de metacercarias por carne cruda de cangrejos y otros crustáceos de agua dulce	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos; estudio de esputo y material de lavado bronquial (huevos)	Prazicuantel	Asia, América del Norte, Centro y Sur, África,
Schistosoma mansoni Bilharziosis, duela de la sangre, esquistosoma	Adultos en venas de colon e hígado	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos, espícula lateral)	Prazicuantel	De África a Oriente Próximo, zonas tropicales y subtropicales, América del Sur, países del Caribe
Schistosoma japonicum	Adultos en venas de intestino delgado e hígado	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	China, Filipinas y Japón
Schistosoma haematobium	Adultos en venas de la vejiga	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Estudio de orina en busca de huevos y parásitos (huevos, espícula terminal)	Prazicuantel	África, ampliamente; Oriente Medio
Infecciones tisulares por cestodos					
Taenia solium (larvas) Cisticercosis, neurocisticercosis (ataque del SNC)	Cisticercos en piel, hígado, pulmones, riñones, músculos, ojos y cerebro	Ingestión de huevos por la vía fecal-oral humana	CT, MRI, radiografías y estudios serológicos	Extirpación quirúrgica, albendazol, prazicuantel	Nivel mundial, especialmente en áreas porcícolas
Echinococcus granulosus (larvas) Enfermedad hidatídica, quiste hidatídico	Quistes hidatídicos en hígado, bazo, pulmones, cerebro y peritoneo	Contacto con perros, lobos u otros cánidos; huevos en heces	CT, MRI, rayos X y serología	Albendazol, extracción quirúrgica	Nivel mundial, especialmente en áreas con cría de ovejas

Abreviaturas: CLM, larva migratoria cutánea; SNC, sistema nervioso central; CT, tomografía computarizada; MRI, resonancia magnética; NLM, larva migratoria nerviosa; OLM, larva migratoria ocular; VLM, larva migratoria visceral.





FIGURA 46-12 *Enterobius vermicularis.* **A:** hembra adulta del oxiuro (10 mm de longitud). **B:** macho adulto del oxiuro (3 mm de largo). **C:** la prueba de la cinta adhesiva indica la presencia de huevos de oxiuro (50-60 μm de largo) con una larva infectante en su interior. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

ASCARIS LUMBRICOIDES (VERME REDONDO DE HUMANOS-NEMATODO INTESTINAL)

Microorganismo

Los ***ascaris*** adultos tienen gran tamaño: las hembras miden 20 a 50 cm de largo y los machos, 15 a 30 cm (figura 46-14). Los seres humanos se infectan después de ingerir los huevos; las larvas nacen en el duodeno, penetran su mucosa, migran hasta llegar al sistema circulatorio, se alojan en los capilares pulmonares y penetran en los alvéolos; de ahí migran desde los bronquiolos a la tráquea y la faringe; son deglutidas y vuelven al intestino y maduran hasta la forma adulta. Después de aparearse, las hembras liberan 200 000 huevos al día que son expulsados por las heces. Los huevos son infectantes después de estar un mes, aproximadamente, en la tierra y conservan tal característica durante varios meses (figura 46-14B).

Patogenia y anatomía patológica

Los vermes adultos, si se concentran en gran cantidad, pueden ocasionar obstrucción mecánica del intestino y de los conductos biliares y pancreáticos. Los parásitos tienden a migrar si la persona recibe anestésicos y esteroides lo que puede ocasionar perforación intestinal y peritonitis, expulsión de los parásitos, vómito y dolor abdominal. Las larvas, al migrar a través de los pulmones, inducen una respuesta inflamatoria (neumonitis), en particular después de la segunda infección, lo cual culmina en espasmo bronquial, producción de moco y síndrome de Löeffler (tos, eosinofilia e infiltrados en pulmones).

ANCYLOSTOMA DUODENALE Y *NECATOR AMERICANUS* (ANQUILOSTOMAS DE HUMANOS-NEMATODO INTESTINAL)

Microorganismo

Las **anquilostomas** hembras tienen unos 10 mm de longitud; los machos son un poco menores y poseen como una

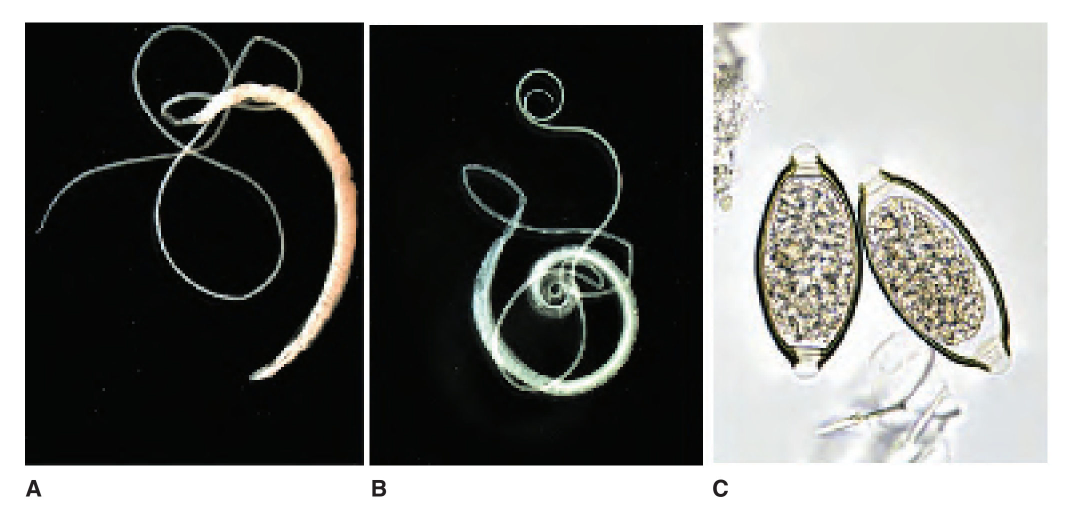
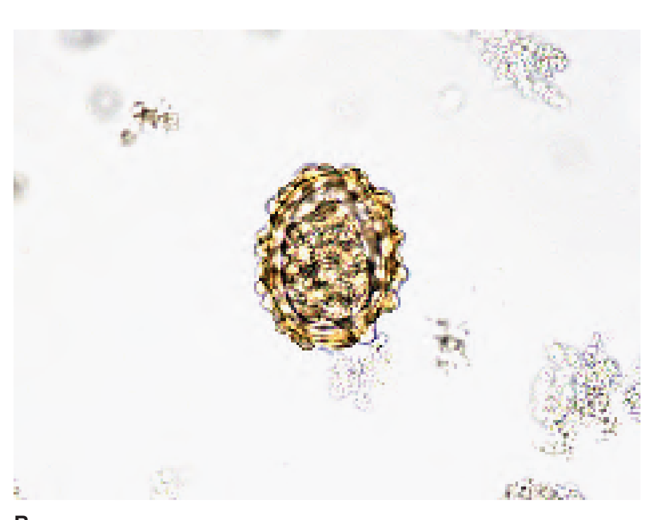


FIGURA 46-13 *Trichuris trichiura.* **A:** hembra adulta de tricocéfalo (30-50 mm de largo). **B:** macho adulto de tricocéfalo (30-45 mm). **C:** huevos de tricocéfalo (50 μm) con tapones polares definidos. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

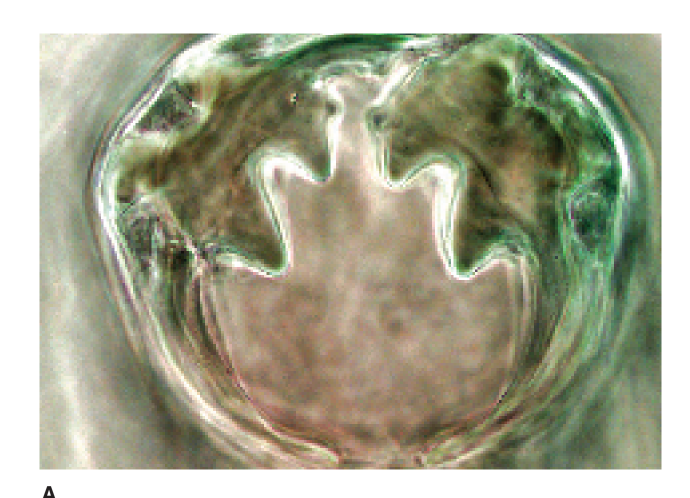


A

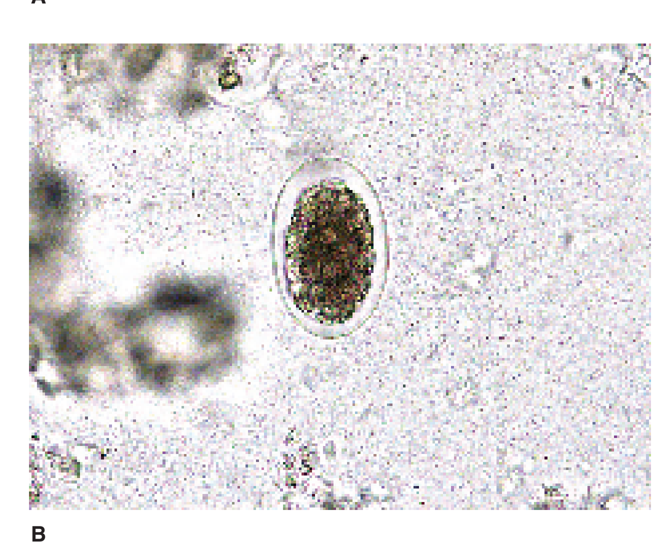


B

FIGURA 46-14 *Ascaris lumbricoides.* **A:** las hembras adultas son más grandes que los machos adultos (la regla en la fotografía mide 16 cm de longitud). **B:** huevo de *Ascaris* (55-75 µm) con las protuberancias características (mamelonadas). (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)



A



B

FIGURA 46-15 *Ancylostoma duodenale.* **A:** anquilostoma adulto con dos pares de dientes en la cápsula bucal. **B:** un huevo de pared fina de anquilostoma (60-75 µm) con segmentación temprana, obtenido de una prueba en busca de huevos y parásitos. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

característica taxonómica una bolsa copulatoria (extremo posterior ensanchado), que usan para aparearse con las hembras. Ellas liberan más de 10 000 huevos al día en las heces, y de cada huevo es expulsada una larva en cuestión de 24 a 48 h (figura 46-15A). Las larvas sobreviven en suelo húmedo durante varias semanas y esperan el paso de una persona descalza y descuidada; penetran en la piel del hospedador y migran en el cuerpo en forma similar a como lo hace *Ascaris,* para terminar en el intestino delgado en donde maduran hasta la forma de parásitos adultos.

Patogenia y anatomía patológica

En el intestino, los parásitos adultos se fijan a las vellosidades con su aparato bucal (figura 46-15B) y succionan sangre y tejidos con el auxilio de una sustancia anticoagulante (Brooker, Bethony y Hotez, 2004). Unos cuantos cientos de parásitos en el intestino originan anquilostomosis que se caracteriza por anemia intensa y ferropenia. Los síntomas también incluyen molestias abdominales y diarrea. La infección cutánea inicial por las larvas ocasiona un cuadro conocido como “dermatitis verminosa” caracterizada por eritema y prurito intenso. Los sitios de infección son los pies y los tobillos, por la exposición de ellos al caminar descalzo.

STRONGYLOIDES STERCORALIS (ESTRONGILOIDOSIS HUMANA-NEMATODO INTESTINAL E HÍSTICA)

Mircoorganismo

Las hembras adultas (de 2 mm de largo en promedio) de ***Strongyloides stercoralis*** que viven en el intestino muestran partenogénesis, es decir, no necesitan de los machos para reproducirse. Depositan sus huevos en el intestino y de ellos nacen larvas que son expulsadas en las heces. Las larvas se desarrollan hasta llegar a las formas parasitarias o transformarse en parásitos macho o hembra de vida libre que se aparean y producen generaciones de vermes en la tierra, ejemplo notable de adaptación evolutiva para mantener una población. Las



FIGURA 46-16 Larvas de *Strongyloides stercoralis* y material de lavado bronquiolar. (Cortesía de Norman Setijono, UCSF.)

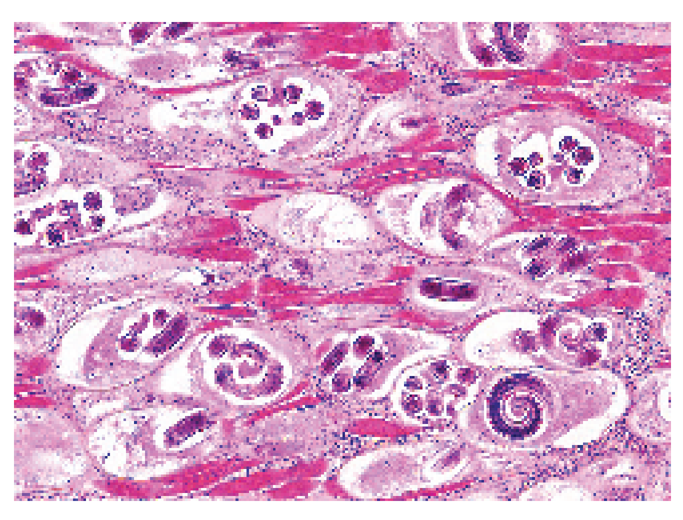


FIGURA 46-17 Larvas de *Trichinella spiralis* enquistadas en tejido muscular. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

larvas de estas formas libres, en algunas situaciones ambientales, como medios cálidos, pueden transformarse en parásitos. Por lo expuesto, *Strongyloides stercoralis* posee una adaptación evolutiva peculiar que incrementa notablemente su eficiencia reproductiva.

Patogenia y anatomía patológica

Strongyloides, parásito de importancia médica, produce a veces reinfección o autoinfección internas si las larvas recién nacidas nunca abandonan el hospedador, y en vez de ello experimentan sus transformaciones en el intestino. Dichas larvas penetran en el órgano en cuestión, emigran por todo el aparato circulatorio, llegan a los pulmones (figura 46-16) y el corazón (en forma semejante a como migran las anquilostomas después de penetrar la piel) para convertirse en hembras parasíticas dentro del intestino. Estos nematodos pueden perpetuar una infección durante muchos años y, en el caso de la inmunodepresión, ocasionar una hiperinfección, en que hay un cuadro fulminante y letal. En las infecciones diseminadas, los signos y síntomas clínicos afectan predominantemente las vías gastrointestinales (diarrea intensa, dolor abdominal, hemorragia gastrointestinal, náusea y vómito), pulmones (tos, sibilancias, hemoptisis) y piel (erupción, prurito, larva migratoria). Las larvas que migran desde el intestino y que transportan bacterias intestinales pueden ocasionar infecciones locales, septicemia y culminar en la muerte.

TRICHINELLA SPIRALIS (NEMATODO INTESTINAL E HÍSTICO)

Microorganismo

El ser humano se infecta de ***Trichinella spiralis*** al consumir carne de cerdo cruda o mal cocida infectada con larvas de dichos nematodos. En el intestino delgado, las larvas cambian a la forma de vermes adultos y, después de aparearse con los machos, las hembras liberan larvas vivas. Estas últimas penetran en el intestino, circulan por la sangre y al final se enquistan en tejido muscular. Los vermes adultos hembras viven algunas semanas y después de la primera semana de infección pueden causar diarrea, dolor abdominal y náusea. Los síntomas intestinales son poco intensos o no surgen y a menudo el paciente no se percata del cuadro.

Patogenia y anatomía patológica

Las manifestaciones principales de la triquinosis son causadas más bien por las larvas enquistadas en tejido muscular (figura 46-17). La fase de migración en tejidos dura un mes, en promedio, y el enfermo muestra fiebre alta, tos y eosinofilia. Conforme se enquistan las larvas, aparece edema, y las células inflamatorias (polimorfonucleares y eosinófilos) infiltran los tejidos. En término de cinco a seis meses surge calcificación, en la cual a veces se destruyen las larvas. La infección es frecuente en músculos muy activos como el diafragma, la lengua, los maseteros, los intercostales y los músculos extraoculares. La persona puede sentir mialgias y debilidad e intensificarse la eosinofilia en los primeros seis meses, para después disminuir.

La triquinosis es una enfermedad zoonótica; los seres humanos la adquieren al consumir carne de cerdo cruda o mal cocida (p. ej., embutidos caseros), pero constituyen el hospedador final. El ciclo vital se perpetúa en animales salvajes como osos y jabalíes o en animales domésticos, en que se produce la transmisión, por ejemplo, de un cerdo a otro.

FASCIOLOPSIS BUSKI (DUELA INTESTINAL GIGANTE-TREMATODO INTESTINAL)

Fasciolopsis buski, la duela intestinal gigante de personas (y cerdos), se localiza en Asia y mide 20 a 75 mm de largo. Las metacercarias larvarias se enquistan en la vegetación como en el caso de las castañas y los abrojos de agua. Los parásitos son ingeridos con vegetales crudos, que después salen del quiste y maduran en el intestino. Muchas infecciones son leves y asintomáticas, pero si hay gran número de parásitos originan

úlceras, abscesos de la pared intestinal, diarrea, dolor abdominal y obstrucción intestinales.

TAENIA SAGINATA (TENIA DE LA RES-CESTODO INTESTINAL) Y *TAENIA SOLIUM* (TENIA DEL CERDO-CESTODO INTESTINAL E HÍSTICA)

Microorganismos

Cuando las personas consumen carne de res o de cerdo cruda o mal cocida que contiene los cisticercos, larvas que se asemejan a vejiguitas, se infectan de ***Taenia saginata*** y ***T. solium*** respectivamente. Los cisticercos, aproximadamente del tamaño de un chícharo, terminan por transformarse en gusanos adultos que pueden tener varios metros de longitud en el intestino. Los parásitos adultos por lo común ocasionan pocos problemas y muchos no generan síntomas. Entre las manifestaciones intestinales de poca gravedad están diarrea y dolor abdominal.

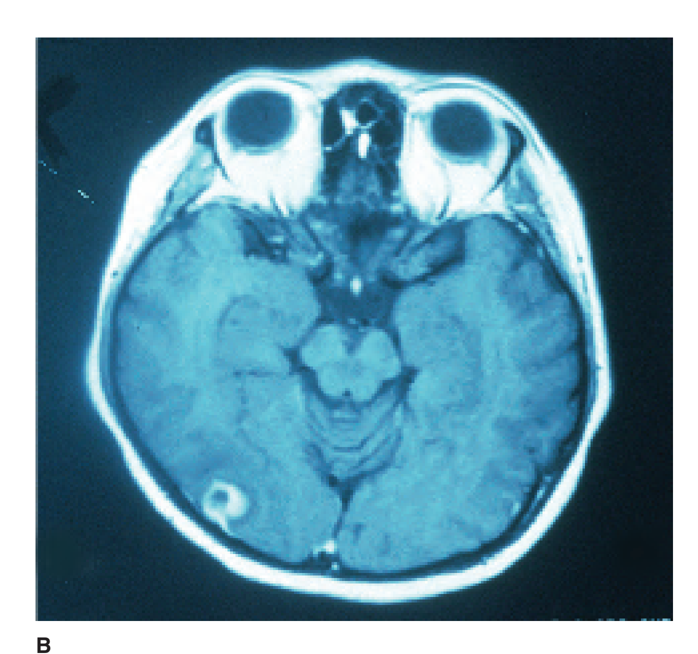
En el intestino, los segmentos terminales con huevos se desprenden del parásito adulto y son expulsados con las heces del ser humano. Si alguna vaca consume los huevos de dichas heces (*T. saginata*) o algún cerdo lo hace (*T. solium*), de los huevos nacen larvas que migran y se enquistan en la forma de cisticercos en diversos tejidos, que incluyen músculos en el ganado vacuno o porcino. Las personas se infectan cuando consumen carne cruda o mal cocida que contiene cisticercos; después se desarrollan hasta la forma de parásitos adultos en el intestino de la persona.

Patogenia y anatomía patológica

Una diferencia importante desde el punto de vista médico entre *T. saginata* y *T. solium* es que los seres humanos constituyen hospedadores intermedios en el caso de *T. solium*, situación similar a la de los cerdos. En consecuencia, si los seres humanos ingieren los huevos de *T. solium*, los cisticercos se enquistan en diversos tejidos que incluyen piel, músculos (figura 46-18A), riñones, corazón, hígado y cerebro (figura 46-18B) y surge una situación conocida como cisticercosis, y sus manifestaciones dependen de los tejidos afectados (p. ej., disminución de la agudeza visual en el caso de la cisticercosis oftálmica; en la neurocisticercosis, las manifestaciones incluyen cefalea, náusea, vómito, alteraciones psíquicas y convulsiones causadas por los cisticercos enquistados en el cerebro). En el caso de la tenia *T. saginata* de la res, los vermes adultos se desarrollan sólo en las personas y en ellos no aparecen los cisticercos del parásito (solamente en ganado vacuno u otros herbívoros).



A



B

FIGURA 46-18 Cisticercos de *Taenia solium*. **A:** varios cisticercos (formas larvarias) enquistados en músculo. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.) **B:** un cisticerco aislado, detectado por resonancia magnética en el cerebro. (Cortesía del Departamento de Patología, UCSF.)

DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM (TENIA ANCHA DE PECES-CESTODO INTESTINAL)

Microorganismo

Diphyllobothrium latum, la tenia ancha de peces, que parasita seres humanos (y otros animales piscívoros), alcanza un tamaño enorme, y a veces excede los 10 m de largo. Los seres humanos se infectan cuando consumen carne de peces cruda o mal cocida, infectada con las larvas conocidas como plerocercoides, que se asemejan a pequeños granos de arroz en la carne de pescado. En los intestinos, el parásito crece rápidamente y termina por mostrar una cadena de segmentos de los cuales pueden liberarse más de un millón de huevos al día.

Patogenia y anatomía patológica

El cuadro clínico causado por las tenias incluye molestias abdominales imprecisas y anorexia que culminan en la pérdida de peso. *D. latum* tiene la capacidad de absorber vitamina B_{12}, y en algunos grupos étnicos, en particular finlandeses, a veces aparece una hipovitaminosis B_{12} que causa niveles diversos de anemia perniciosa.

HYMENOLEPIS NANA (TENIA ENANA-CESTODO INTESTINAL)

Microorganismo

Hymenolepis nana, la tenia enana de personas (y roedores) tiene sólo unos 4 cm de largo. Es un parásito cosmopolita con una distribución mundial y causa una de las manifestaciones más frecuentes en personas, porque los huevos no pasan por la fase usual de desarrollo en un insecto; en vez de ello infectan a las personas directamente por medio de los huevos expulsados en las heces de otras personas (ciclo vital directo). Como otra posibilidad, si la persona consume inadvertidamente el insecto que tiene en su interior la fase larvaria, las larvas se transforman en parásitos adultos en el ser humano (ciclo vital indirecto). La infección puede producirse en ambas formas.

Patogenia y anatomía patológica

En ocasiones surgen infecciones masivas, predominantemente en niños, como consecuencia de autorreinfección interna, cuando de los huevos surgen larvas en el intestino, sin salir de este órgano. Salvo los casos comentados de infección extraordinariamente intensa, la enfermedad causada por tales parásitos se limita a trastornos intestinales sin importancia.

DIPYLIDIUM CANINUM (TENIA DE PERROS-CESTODO INTESTINAL)

Dipylidium caninum es un cestodo que normalmente infecta cánidos, félidos y propietarios de mascotas, en particular niños. Los parásitos adultos están en los intestinos y liberan los característicos segmentos de doble poro que contienen cúmulos de huevos, y lo hacen a las heces del hospedador (figura 46-19). Los huevos son ingeridos por larvas de pulgas, en las cuales el parásito se desarrolla y experimenta su fase larvaria. Las pulgas adultas infectadas aún tienen el parásito y a su vez son ingeridas por perros y gatos cuando lamen el sitio donde la pulga succionó sangre. Ante la íntima relación de humanos con sus mascotas (y sus pulgas), ellos adquieren la infección, pero en gran medida es asintomática. En los niños, la infección puede originar diarrea e inquietud.

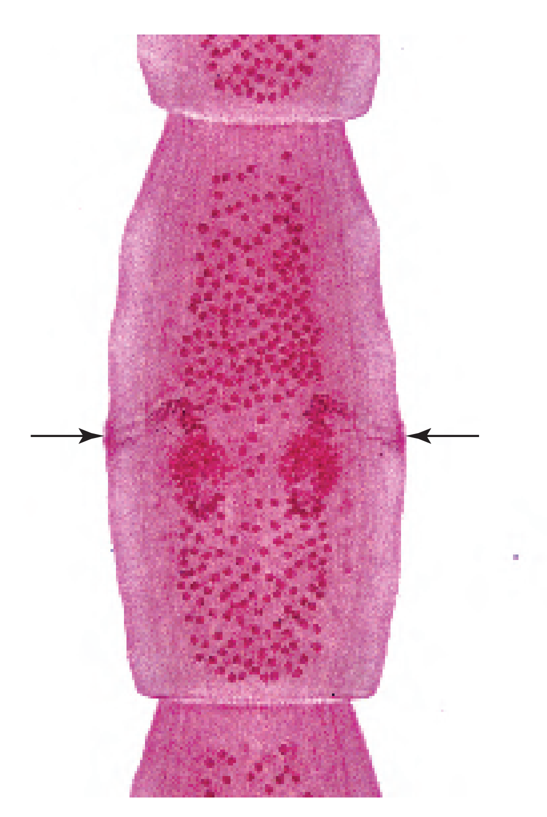


FIGURA 46-19 Proglótide de *Dipylidium caninum (*23 mm de largo x 8 mm de ancho) con características de semilla de calabaza y poros genitales (*flechas*) en ambos lados. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

HELMINTOSIS DE SANGRE Y TEJIDOS

WUCHERERIA BANCROFTI Y *BRUGIA MALAYI* (FILARIOSIS LINFÁTICA-NEMATODOS HÍSTICOS)

Microorganismos

Los nematodos de la familia de las filarias ***Wuchereria bancrofti***, ***Brugia malayi***, ***Brugia timori*** y *Onchocerca volvulus*, son gusanos largos finos cuyas formas adultas se localizan en los tejidos. La filariosis linfática es causada por los parásitos adultos de *W. bancrofti*, *B. malayi* y *B. timori afecta* a más de 120 millones de personas en 73 países en zonas tropicales y subtropicales de Asia, África, Pacífico Occidental y algunos países del Caribe y Sudamérica. Las formas adultas (las hembras miden 8 a 10 cm de largo y los machos 3 a 4 cm) se alojan en los vasos linfáticos, en los que las hembras liberan en la linfa larvas pequeñas llamadas microfilarias. Estas últimas terminan en la sangre periférica y en ella se les identifica en momentos específicos del día, según las costumbres hematófagas del insecto vector (situación conocida como periodicidad). Con estos vermes filáricos, la infección es transmitida por mosquitos y por ello la prevención se centra más bien en proteger contra sus picaduras. Las medidas de control personal incluyen el empleo de un repelente de insectos, mosquiteros y ropas protectoras.

Patogenia y anatomía patológica

Los parásitos adultos dentro de los tejidos linfáticos constituyen la causa primaria de reacciones inflamatorias y fibróticas. Entre los signos y los síntomas de la infección aguda están linfangitis, acompañada de fiebre, edema, dolor en ganglios linfáticos e inflamación que se propaga a partir de los ganglios afectados. Se conoce como elefantiasis al agrandamiento anormal y burdo de extremidades, mamas y genitales que se observa en la infección crónica (figura 46-20) y es una reacción inmunopatológica a las formas adultas maduras o en fase de muerte en los tejidos linfáticos.



FIGURA 46-20 Mujer con filariosis linfática. (Con autorización de la colección de imágenes de la OMS/TDR/Crump.)

ONCHOCERCA VOLVULUS (CEGUERA DE LOS RÍOS-NEMATODO TISULAR)

La OMS calcula que la prevalencia global de oncocercosis excede de 25 millones de personas, de las cuales 300 000 están ciegas y otras 800 000 quedan con deficiencias visuales por el parásito. Muchas de las personas infectadas viven en África Occidental y Central, pero el trastorno también se ha detectado en Yemen y algunas zonas de América.

Microorganismo

O. volvulus es transmitido cuando las moscas negras infectadas del género *Simulium* se alimentan a través de la piel humana; los artrópodos mencionados no perforan los vasos sanguíneos con las piezas bucales finas y delicadas como lo hacen los mosquitos; en vez de ello la mosca infectante tritura la piel y se alimenta de la mezcla de ella y de sangre, sitio en que libera las larvas de *Onchocerca;* éstas se transforman en los parásitos adultos (las hembras miden 33 a 50 cm y los machos, 19 a 42 cm de largo), en los tejidos subcutáneos, en donde quedan encapsulados dentro del tejido del hospedador para formar un nódulo (oncocercoma) de 1 a 5 cm de diámetro (figura 46-21). Las formas adultas se aparean y la hembra libera microfilarias que migran dentro de la piel. La mosca negra ingiere las microfilarias en el momento de su picadura y éstas se transforman dentro de la propia mosca en larvas infectantes después de una semana. Los artrópodos vectores necesitan ríos con corrientes rápidas y agua con alto contenido de oxígeno para sobrevivir, y por ello la enfermedad se conoce como “ceguera de los ríos”.



A



B

FIGURA 46-21 *Onchocerca volvulus.* **A:** palpación de un nódulo subcutáneo. (Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TDR/Crump.) **B:** los nódulos extirpados quirúrgicamente contuvieron gusanos adultos enrollados. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

Patogenia y anatomía patológica

En el caso de *Onchocerca,* el daño más intenso lo causan las microfilarias liberadas de las hembras. Las microfilarias migratorias que se localizan exclusivamente en el líquido intersticial de la piel y tejidos subdérmicos (*no* en el torrente sanguíneo) originan cambios en el pigmento cutáneo y pérdida de fibras elásticas, lo cual causa una gran laxitud en la zona afectada, otros cambios de la piel y prurito intenso a veces rebelde e

intolerable. Un trastorno mucho más grave es la ceguera que afecta a millones, principalmente en África (sobre todo varones). La pérdida de la visión evoluciona en el curso de años, y depende de la acumulación de microfiliarias en el humor vítreo, porque estas formas parasitarias no se originan en la sangre y por ello se concentran y permanecen en los líquidos del ojo. La visión borrosa, la fotofobia, y por último el daño de la retina culminan en ceguera incurable.

DRACUNCULUS MEDINENSIS (GUSANO DE GUINEA-NEMATODO HÍSTICO)

Microorganismo

Dracunculus medinensis, el gusano de Guinea, con características poco comunes, pasa por un ciclo acuático en que intervienen los copépodos ("pulgas de agua", un grupo abundante de microcrustáceos acuáticos). Los copépodos ingieren las larvas salidas de las vesículas cutáneas de seres humanos, que se rompen cuando la persona se sumerge en agua fría y queda en libertad un gran número de larvas. La persona, de manera inadvertida, ingiere los copépodos infectados al beber agua contaminada, no filtrada. Después de una migración en todo el cuerpo durante un año, los parásitos maduran y se aparean. Luego las hembras viajan a la piel (por lo común de la pierna) en donde causan vesículas que se forman cerca del pie y del tobillo. Una de las mejores formas de aliviar el dolor y la irritación de las vesículas sería remojar la pierna afectada en agua fría; esta última estimula a la hembra del gusano de Guinea a liberar las larvas y así continúa el ciclo vital.

Patogenia y anatomía patológica

D. medinensis propicia cambios patológicos de diversa índole, de acuerdo con el sitio de infección del parásito adulto y la respuesta del hospedador a la presencia del gusano o a su extracción. Casi todos los cuadros patológicos causados por el gusano de Guinea son consecuencia de infecciones bacterianas secundarias; ellas pueden depender de septicemia en el punto en que sobresale el extremo anterior del gusano desde las vesículas cutáneas. Las formas adultas muertas (o fragmentos) en la piel pueden desencadenar infección intensa y al mismo tiempo gangrena o anafilaxia; estos parásitos son causa importante de debilidad y pérdidas económicas en África, donde están en marcha intentos de control orientados a erradicar la enfermedad, y es probable que en cuestión de años ésta constituya una posibilidad clara.

LARVA MIGRATORIA (INFECCIONES ZOONÓTICAS POR LARVAS DE NEMATODOS)

Microorganismos

El cuadro de larva migratoria surge cuando los seres humanos se infectan con nematodos que por lo general parasitan hospedadores animales. Los seres humanos son hospedadores terminales; las larvas se degeneran e inducen una respuesta inmunitaria al parásito muerto o en agonía y no se tornan reproductivamente maduros en los seres humanos. La eosinofilia es una característica frecuente y en el diagnóstico no son útiles los estudios coproparasitoscópicos en busca de huevos y parásitos. Se conocen varias formas de larva migratoria.

Patogenia y anatomía patológica

La larva migratoria cutánea (CLM, *cutaneous larva migrans*), llamada también roña de la piel, se adquiere cuando la piel sin protección (a menudo las manos y los pies) entra en contacto con las larvas de ***Ancylostoma caninum*** en la tierra, la **tenia del perro**; migran en las capas epiteliales de la piel y dejan en ella trayectos rojos pruriginosos. Signos de CLM son el eritema y las pápulas en el sitio de penetración, y los trayectos serpiginosos de inflamación y rubor.

La larva migratoria visceral (VLM, *visceral larva migrans*) es una entidad en que los mamíferos marinos como focas, delfines y ballenas constituyen los hospedadores normales de ***Anisakis*** (**anisaquiosis de la ballena**). Estas larvas tienen en promedio 15 mm de longitud y aparecen en los hospedadores intermedios como el bacalao, el arenque, el salmón y el pescado de rocas, y si la persona accidentalmente consume su carne en forma cruda o mal cocida, surgirá invasión de la mucosa gástrica o de tejido intestinal y ocasionará dolor abdominal intenso que remeda el de la apendicitis o de la obstrucción intestinal. Se forman granulomas eosinófilos alrededor de las larvas en tejidos del estómago o de intestino, y las larvas migran y salen de las vías gastrointestinales.

La larva migratoria ocular (OLM, *ocular larva migrans*), y la larva migratoria del tejido nervioso (NLM, *neural larva migrans*), son entidades en que la ingestión de huevos de la **lombriz del perro** (***Toxocara canis***) y la del **mapache** (***Baylisascaris procyonis***) pueden ocasionar las formas cutánea, visceral, ocular y nerviosa de la larva migratoria. Las larvas nacen de los huevos en el intestino y migran en toda la circulación. Se alojan en diversos tejidos, y como consecuencia, se forman granulomas alrededor de ellas. Entre los síntomas de VLM están fiebre, hepatomegalia y eosinofilia; los de OLM ocasionan disminución de la visión y ceguera en el ojo afectado. Una sola larva en el cerebro (NLM) puede causar disfunción motora grave y ceguera, y las infecciones por las lombrices del mapache pueden ser mortales (Gavin *et al*., 2006).

CLONORCHIS SINENSIS (DUELA HEPÁTICA CHINA), *FASCIOLA HEPATICA* (DUELA HEPÁTICA DE LAS OVEJAS) Y *PARAGONIMUS WESTERMANI* (DUELA DEL PULMÓN)-TREMATODOS DE TEJIDOS)

Microorganismos

Se calcula que más de 980 millones de personas del sudeste asiático y de la región occidental del Pacífico están en peligro de contraer una infección por *Clonorchis*, *Fasciola* y *Paragonimus*, transportados por alimentos (Keiser y Utzinger, 2009).

La ingestión de alimentos mal cocidos o preparados de manera inapropiada, de productos de áreas endémicas, hace

que los seres humanos sean infectados por ***Clonorchis***, porque ingieren las metacercarias enquistadas en peces de agua dulce (p. ej., la carpa); la ***Fasciola***, al ingerir metacercarias enquistadas en vegetales acuáticos (p. ej., berro de agua) y ***Paragonimus*** al ingerir crustáceos hospedadores como los langostinos o el cangrejo de agua dulce (su carne deshebrada con aderezo de ensalada).

Anatomía patológica o patogenia

Las metacercarias de ***Clonorchis sinensis*** (duela hepática china) nacen del quiste en el intestino y migran hasta el colédoco, donde se identifican incluso 500 a 1 000 o más parásitos adultos. Las duelas mencionadas irritan mecánicamente los conductos biliares, lo cual ocasiona fibrosis e hiperplasia. En infecciones graves, los parásitos causan fiebre, escalofríos, dolor epigástrico y eosinofilia. La colangitis crónica puede culminar en atrofia del parénquima hepático, fibrosis porta, ictericia por obstrucción de vías biliares y cirrosis del hígado.

Fasciola hepática (duela hepática de oveja) a menudo se localiza en el hígado de ovejas, reses y otros herbívoros, penetra la pared intestinal, entra en la cavidad celómica, invade el tejido hepático y permanece en los conductos biliares. La infección aguda origina dolor abdominal, fiebre intermitente, eosinofilia, malestar general y pérdida de peso causado por daño hepático. La infección crónica puede ser asintomática y causar obstrucción intermitente de vías biliares.

Las metacercarias de la duela pulmonar del hombre ***Paragonimus westermani*** salen del quiste en el intestino humano y los vermes jóvenes migran a los pulmones en donde quedan encapsulados dentro de tejido pulmonar (figura 46-22). Los huevos, liberados por vermes adultos, se desplazan hasta la tráquea y de ahí a la faringe para ser expectorados o deglutidos, y más adelante aparecen en las heces. Los huevos en el pulmón inducen una respuesta inflamatoria, pues alrededor de ellos se forman granulomas. Las duelas pulmonares adultas tienen el aspecto de nódulos blancos grisáceos de 1 cm de diámetro, dentro del pulmón, pero pueden identificarse parásitos en sitios ectópicos (cerebro, hígado y pared intestinal). Los síntomas de la tuberculosis pulmonar son similares a los de la paragonimiosis (tos y hemoptisis), razón por la cual es importante tomar en consideración en el diagnóstico diferencial, la infección por la duela de pulmón.

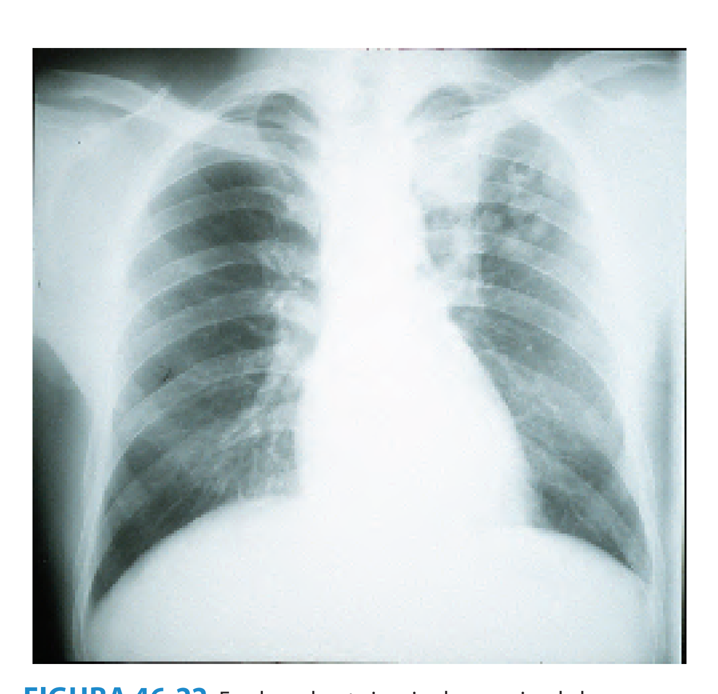


FIGURA 46-22 En el cuadrante izquierdo superior de los pulmones en la radiografía de tórax se observan gusanos adultos de *Paragonimus westermani*. (Con autorización del Departamento de Radiología, UCSF.)

SCHISTOSOMA MANSONI, SCHISTOSOMA JAPONICUM Y *SCHISTOSOMA HAEMATOBIUM* (DUELAS DE LA SANGRE)

Microorganismos

Se ha calculado que más de 200 millones de personas a nivel mundial están infectadas con alguna especie del género *Schistosoma*. Los parásitos adultos son largos y finos (los machos tienen 6 a 12 mm de longitud y las hembras, 7 a 17 mm) y pueden vivir en cópula 10 a 20 años dentro del sistema venoso (figura 46-23A): ***Schistosoma mansoni***: venas mesentéricas inferiores del colon; ***Schistosoma japonicum***: venas mesentéricas inferior y superior del intestino delgado; ***Schistosoma haematobium:*** venas de la vejiga.

Los seres humanos se contagian de la infección cuando entran en contacto con agua contaminada con las cercarias infectantes. Éstas son atraídas por el calor del cuerpo y los lípidos cutáneos y comienzan a horadar la piel al descubierto. En término de 30 min, las cercarias penetran la epidermis y se transforman en esquistosómulos que penetran en la circulación periférica, en donde se tornarán adultos en el sistema hepatoporta o los plexos venosos alrededor de la vejiga. Los esquistosomas hembras comienzan a liberar huevos cinco a ocho semanas luego de la infección.

Patogenia y anatomía patológica

El cuadro patológico más notable depende de los huevos de esquistosoma y no de los parásitos adultos. Los esquistosomas hembra pueden expulsar en el sistema venoso cientos o miles de huevos al día. Una vez libres los huevos, la circulación arrastra a muchos y los lleva al hígado (*S. mansoni* y *S. japonicum*) o la vejiga (*S. haematobium*), en tanto que otros más llegan al interior del intestino y son expulsado con las heces (*S. mansoni* y *S. japonicum*), o la orina (*S. haematobium*). Alrededor de los huevos surge una reacción granulomatosa y ello causa fibrosis del hígado en el caso de *S. mansoni* y *S. japonicum*. En situaciones crónicas queda obstruida la circulación sanguínea al hígado, lo cual ocasiona hipertensión porta, acumulación de líquido de ascitis en la cavidad abdominal, hepatoesplenomegalia y várices esofágicas.

En el caso de infecciones por *S. haematobium*, hay afectación de las vías urinarias: surge dolor uretral, poliquiuria, disuria, hematuria y obstrucción vesical, lo cual originará infecciones bacterianas secundarias.

En personas que han viajado a países endémicos, entre los signos clínicos de la esquistosomosis aguda están la "erupción

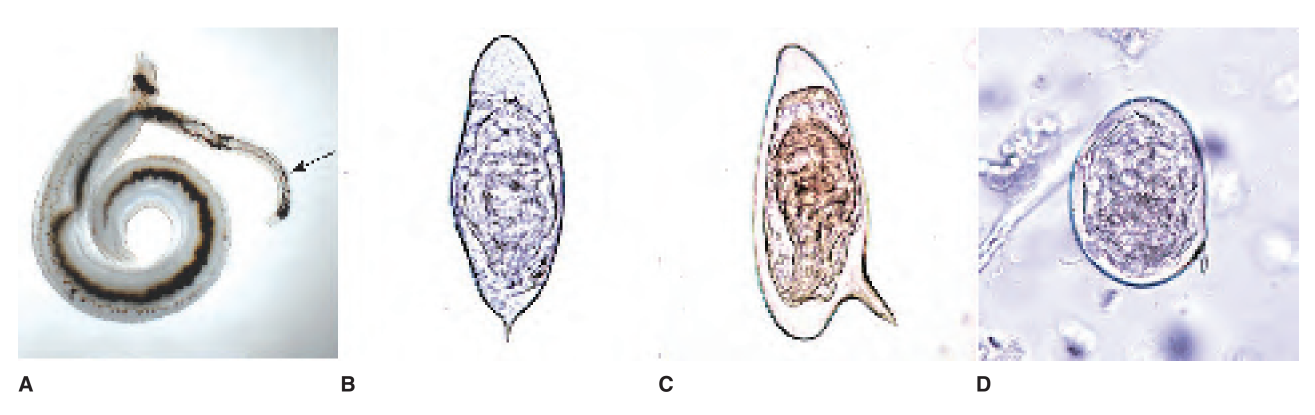


FIGURA 46-23 **A:** formas adultas de *Schistosoma mansoni* en cópula. La hembra (*flecha*) queda dentro del conducto ginecóforo del macho. (Cortesía de Conor Caffrey, UCSF.) **B:** huevo de *Schistosoma mansoni* con espícula lateral (110-175 µm de largo x 45-70 µm de ancho). **C:** huevo de *Schistosoma haematobium* con espícula terminal (110-170 µm de largo × 40-70 µm de ancho). **D:** huevo de *Schistosoma japonicum* con espícula corta (70-100 µm de largo x 55-65 µm de ancho). (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

de los nadadores" que surge en término de una hora de que las cercarias penetraron la piel, seguida de cefalea, escalofríos, fiebre, diarrea y eosinofilia (conocida como fiebre de los caracoles o de Katayama), dos a 12 semanas después de la exposición (CDC: Infectious Diseases Related to Travel).

El diagnóstico se confirma por la identificación de huevos y parásitos en el estudio coproparasitoscópico: en las heces se identifican huevos de *S. mansoni* (espícula lateral), y *S. japonicum* (espícula apenas visible); huevos de *S. haematobium* (espícula terminal) en la orina (figura 46-23).

INFECCIONES POR CESTODOS HÍSTICOS (CAUSADAS POR LAS FASES LARVARIAS)

TAENIA SOLIUM-CISTICERCOSIS/ NEUROCISTICERCOSIS

Consúltese el apartado de *T. solium* en la sección de helmintosis intestinales.

ECHINOCOCCUS GRANULOSUS (QUISTE HIDATÍDICO)

Microorganismo

E. granulosus es una tenia pequeña con tres segmentos o proglótides que se localizan solamente en el intestino de perros y otros cánidos. Los huevos salen de los hospedadores e infectan animales que pastan. En forma similar a lo que se observa con las tenias de la res y del cerdo, del huevo nace una larva que penetra el intestino y migra a tejidos, en particular, hígado, bazo (figura 46-24A), músculos y cerebro. En vez de transformarse en un cisticerco como ocurre en el caso de las tenias de la res y del cerdo, la larva de *Echinococcus* se transforma en un quiste lleno de líquido llamado quiste hidatídico; éste contiene epitelio germinal en el que se desarrolla miles de futuras larvas (llamadas protoescólices) (figura 46-24B). Dentro del quiste hidatídico, los protoescólices están dentro de cápsulas



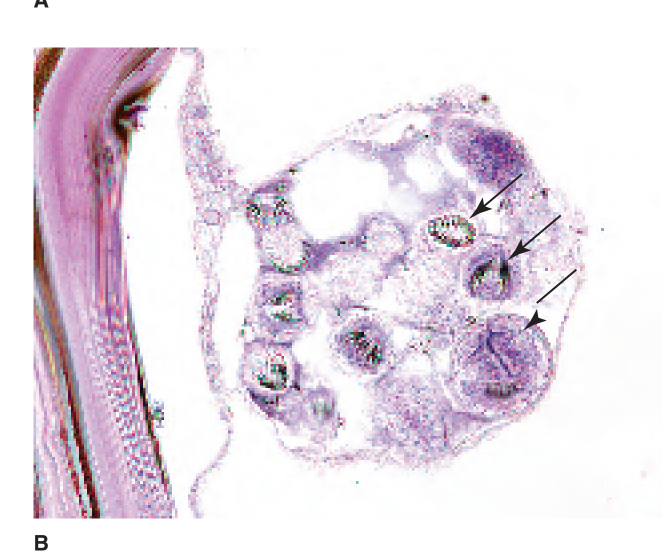


FIGURA 46-24 *Echinococcus granulosus.* **A:** quiste hidatídico de 14 cm de una persona a la que se le extirpó el bazo. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF). **B:** corte histológico de un quiste hidatídico en que se observan varios protoescólices (*flechas*) dentro de una cápsula de incubación. (Con autorización de Sullivan J: *A Color Atlas of Parasitology,* 8a. ed. 2009.)

germinativas. Al romperse el quiste hidatídico, las cápsulas pueden derramar el contenido, enviar metástasis a otros sitios y transformase en otro quiste hidatídico. Por todo lo señalado, la ingestión de un solo huevo puede originar varios quistes hidatídicos y cada uno contiene algunas cápsulas incubadas o germinativas.

Los seres humanos se infectan solamente después de ingerir huevos de equinococos de heces de perros; los perros u otros cánidos, se contagian al consumir el estado larvario que se encuentra en el quiste hidatídico.

Patogenia y anatomía patológica

Los quistes hidatídicos crecen en promedio 1 a 7 cm cada año y los síntomas dependen del sitio en que están en el cuerpo. El hígado es el órgano afectado con mayor frecuencia y en él pueden surgir compresión, atrofia, hipertensión porta por obstrucción mecánica y cirrosis. Hay que tener enorme cuidado cuando se extraiga el quiste, pues si se rompe, el líquido altamente inmunógeno puede causar choque anafiláctico, y las cápsulas incubadas pueden enviar metástasis y con ello formar más quistes de este tipo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una madre afirma que ha observado a su hijo de cuatro años de edad rascándose la zona perianal con frecuencia. La causa más probable de esta condición es:
   (A) *Trichomonas vaginalis*
   (B) *Enterobius vermicularis*
   (C) *Ascaris lumbricoides*
   (D) *Necator americanus*
   (E) *Entamoeba histolytica*
2. La enfermedad de Chagas es temida particularmente en países de Latinoamérica, por los riesgos que impone al corazón y al sistema nervioso parasimpático y porque no se cuenta con un fármaco eficaz contra las etapas sintomáticas ulteriores. El paciente que usted atiende planea residir en una aldea venezolana, uno o dos años. De las sugerencias siguientes, ¿cuál sería especialmente útil para evitar que se contagie de dicha enfermedad?
   (A) Hervir o tratar toda el agua potable
   (B) Dormir bajo la protección de un mosquitero
   (C) No tener mascotas dentro de la vivienda
   (D) Nunca caminar descalzo en la tierra de la aldea
   (E) No comer lechugas u otras verduras crudas o frutas sin pelar
3. Una mujer de 24 años sexualmente activa señala sentir prurito en la vagina y de ella mana una secreción purulenta fétida. Para corroborar el diagnóstico tentativo de tricomonosis, el médico debe incluir algunas de las técnicas siguientes en su investigación:
   (A) Estudios serológicos específicos
   (B) Búsqueda de huevos y parásitos en un frotis de heces
   (C) Preparación microscópica de líquido vaginal
   (D) Método ELISA en suero
   (E) Cultivo de heces
4. En un escenario peculiar, suponga el lector que trabaja en una clínica rural en China y una madre le lleva a su niña de tres años para atención. La menor tiene aspecto demacrado y después de estudios, su nivel de hemoglobina es de 5 g/100 ml; tiene hinchados los pies y los tobillos, y una erupción extensa en pies, tobillos y rodillas. La parasitosis que muy probablemente ha causado el trastorno de la pequeña es:
   (A) Esquistosomosis
   (B) Dermatitis por cercarias
   (C) Ciclosporosis
   (D) Anquilostomosis
   (E) Tricurosis
   (F) Ascariosis
5. Los efectos patológicos de las filarias en seres humanos son causados por los parásitos adultos, en todos los casos, salvo en una especie. En tal situación el daño principal es producido por las microfilarias de:
   (A) *Brugia malayi*
   (B) *Mansonella ozzardi*
   (C) *Dracunculus medinensis*
   (D) *Wuchereria bancrofti*
   (E) *Onchocerca volvulus*
6. Un varón de 18 años señala sentir dolor abdominal, timpanitis, expulsión frecuente de heces diarreicas y pérdida de energía. Un mes antes volvió de una temporada de tres semanas de caminatas en el campamento de base del monte Everest en Nepal. La excursión abarcó solamente caminatas a grandes alturas, ya que el voló para llegar y salir del sitio de inicio a cerca de 4 000 m de altura. De los factores siguientes, ¿cuál es el más importante para el diagnóstico?
   (A) Exposición a dosis altas de rayos ultravioleta
   (B) La fuente y la purificación del agua
   (C) El empleo de repelentes de insectos durante las caminatas
   (D) La presencia de animales domésticos durante los viajes
   (E) La intensidad del contacto con los aldeanos en los viajes
7. De los métodos diagnósticos siguientes, ¿cuál debe practicarse en el paciente de la pregunta anterior?
   (A) Estudio bacteriológico de sangre y orina
   (B) Búsqueda de huevos y parásitos en estudios seriados y frotis fecales
   (C) ELISA o estudios serológicos de hemoaglutinación en busca de paludismo
   (D) Búsqueda de microfilarias en un fragmento de piel
   (E) Estudio endoscópico en busca de tricocéfalos
8. El parásito que con mayor probabilidad originó la enfermedad del paciente de la pregunta 6 es:
   (A) *Leishmania major*
   (B) *Plasmodium vivax*
   (C) *Trichomonas vaginalis*
   (D) *Naegleria gruberi*
   (E) *Giardia lamblia*
9. Según notificaciones, se supo que algunos aldeanos de Papúa Nueva Guinea que consumen carne de cerdo durante celebraciones presentaron un brote de convulsiones epileptiformes. Uno de los primeros factores que es necesario investigar es:
   (A) La prevalencia de infecciones por *Ascaris* en la población
   (B) La prevalencia de esquistosomosis en la población
   (C) La presencia de *Trypanosoma brucei gambiense* en los aldeanos
   (D) La presencia de quistes de *Giardia* en el agua potable
   (E) La presencia de *Taenia solium*, en los cerdos.
10. Un turista de 32 años viajó a Senegal, donde estuvo un mes. En el viaje, se bañó en el río Gambia. Dos meses después de su regreso refirió dolor intermitente en la mitad baja del vientre, con disuria. Los resultados de estudios de laboratorio en que se buscaron huevos y parásitos indicaron que los huevos tenían una espícula terminal. De los siguientes parásitos, ¿cuál sería la causa de los síntomas del enfermo?
    (A) *Toxoplasma gondii*
    (B) *Schistosoma mansoni*

(C) *Schistosoma haematobium*
(D) *Ascaris lumbricoides*
(E) *Taenia solium*

11. Con base en la respuesta de la pregunta anterior, ¿qué tipo de muestra se debería obtener para el análisis de laboratorio?
(A) Frotis de gota gruesa de sangre
(B) Muestra de heces
(C) Muestra de orina
(D) Sangre para estudio serológico
(E) Muestra de esputo

12. Una mujer de 23 años que había estado sana retornó en fecha reciente de sus vacaciones después de visitar algunos amigos en Arizona. Señaló que sentía cefalea intensa, veía "destellos luminosos" y tenía una secreción purulenta que manaba por las vías nasales. Fue hospitalizada con el diagnóstico de meningitis bacteriana y falleció cinco días después. De los parásitos siguientes, ¿cuál habría que considerar en el diagnóstico? La paciente no tenía antecedentes de viajar fuera de Estados Unidos.
(A) *Plasmodium falciparum*
(B) *Toxoplasma gondii*
(C) *Strongyloides stercoralis*
(D) *Entamoeba histolytica*
(E) *Naegleria fowleri*

13. ¿En qué forma la paciente de la pregunta previa se contaminó del parásito?
(A) Ingestión de quistes en el agua potable contaminada por heces
(B) Consumo de peces mal cocidos
(C) Consumo de carne de res mal cocida
(D) Caminar descalza en el parque
(E) Practicar el coito sin protección
(F) Ser picada por una mosca de arena
(G) Bañarse en aguas termales naturales

14. Un criador de ovejas de 37 años de Australia acude con dolor en el cuadrante derecho superior del vientre y su color es levemente ictérico. Después de coprocultivo no se detectaron huevos ni parásitos, pero la tomografía computarizada del hígado indicó que tenía un gran quiste de 14 cm que al parecer contenía líquido. ¿Cuál de los siguientes parásitos debe ser considerado?
(A) *Toxoplasma gondii*
(B) *Taenia solium*
(C) *Taenia saginata*
(D) *Clonorchis sinensis*
(E) *Schistosoma mansoni*
(F) *Echinococcus granulosus*
(G) *Paragonimus westermani*

15. Una mujer de 38 años al parecer cansada pero alerta estuvo seis meses como maestra en una escuela rural de un poblado de Tailandia. Sus manifestaciones principales incluyeron cefalea frecuente, náusea y vómito ocasionales, además de fiebre periódica. El clínico sospecha paludismo y detecta parásitos en eritrocitos en un frotis delgado de la sangre obtenida por pinchazo de dedo. Para descartar la posibilidad de la forma peligrosa por *P. falciparum*, ¿cuál de los siguientes elementos concordaría con el diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* con base en el estudio microscópico del frotis de sangre?
(A) Eritrocitos que contienen trofozoitos con puntos de Schüffner
(B) Eritrocitos que contienen >1 parásito por eritrocito
(C) Gametocitos en forma de plátano o de media luna
(D) Parásitos dentro de eritrocitos de tamaño normal
(E) Parásitos con doble núcleo

16. Ante la confirmación del diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* en el paciente de la pregunta 15, ¿cuál de los siguientes regímenes terapéuticos sería el apropiado cuando se sabe que hay resistencia a la cloroquina?
(A) Tratamiento combinado basado en artemisina oral (ATC, *artemisin combination therapy*)
(B) Cloroquina oral
(C) Cloroquina intravenosa
(D) Proguanil oral
(E) Quinidina intravenosa

17. Después de confirmar el diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum*, el médico debe orientar al paciente de la pregunta previa, con uno de los aspectos siguientes:
(A) La recidiva ocurre con *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale*, pero no con *Plasmodium falciparum* y por lo tanto no se requiere tratamiento para hipnozoitos.
(B) La primaquina se utiliza para evitar las recidivas por *Plasmodium falciparum*.
(C) La vuelta a los trópicos sería peligrosa porque quizá surgió hipersensibilidad al parásito.
(D) El uso de mosquiteros tratados con insecticida en áreas endémicas no es necesario puesto que la paciente ya tiene paludismo.
(E) No es necesario que la paciente tome antipalúdicos cuando viaje a zonas endémicas.

18. Se hizo el diagnóstico de amebosis intestinal en un varón de 52 años que volvió de un viaje por India y el sudeste asiático y se obtuvieron buenos resultados con el tratamiento a base de yodoquinol. Un mes después volvió a la clínica y se quejó de las siguientes manifestaciones médicas. De los cuadros patológicos siguientes, ¿cuál sería, muy probablemente, consecuencia de amebosis diseminada (a pesar de que la infección intestinal al parecer estaba curada)?
(A) Fiebre alta periódica
(B) Orina sanguinolenta
(C) Hígado doloroso al tacto y agrandado
(D) Lesión cutánea húmeda
(E) Bazo agrandado y doloroso

Respuestas

1. B	6. B	11. C	16. A
2. B	7. B	12. E	17. A
3. C	8. E	13. G	18. C
4. D	9. E	14. F	
5. E	10. C	15. A	

BIBLIOGRAFÍA

Brooker S, Bethony J, Hotez PJ: Human hookworm infection in the 21st century. *Adv Parasitol* 2004;58:197.

Centers for Disease Control: Chapter 3 Infectious Diseases Related to Travel (www.nc.cdc.gov/travel/yellowbook/2014/chapter-3-infectious-diseases-related-to-travel/schistosomiasis).

Centers for Disease Control and Prevention: Parasitic diseases (www.cdc.gov/ncidod/dpd/).

Centers for Disease Control and Prevention, Morbidity and Mortality Weekly Report: Malaria Surveillance — United States, 2011, November 1, 2013/62(ss05);1–17.

Centers for Disease Control and Prevention, Treatment Guidelines, Treatment of Malaria, July 2013:1–8 and Treatment Table (http://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/treatmenttable.pdf)

Drugs for parasitic infections. Treatment Guidelines from *The Medical Letter*, vol. 11 (Suppl), 2013.

Gavin PJ, Kazacos KR, Shulman ST: Baylisascariasis. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:703.

Goldsmith RS, Heyneman D (editors): *Tropical Medicine and Parasitology*. Appleton and Lange, 1989.

Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (editors): *Tropical Infectious Diseases Principles, Pathogens, and Practice*, 2a. ed. Churchill Livingstone. Elsevier, 2 vols, 2006.

Haque R, Huston CD, Hughes M, Petris WA Jr: Current concepts: Amebiasis. *N Engl J Med* 2003;348:1565.

Keiser J, Utzinger J: Food-borne trematodiasis. *Clin Microbiol Rev* 2009;22:466.

Maier AG, *et al.,* Exported proteins required for virulence and rigidity of Plasmodium falciparum-infected human erythrocytes. *Cell* 2008;134:48.

Marie C and Petri Jr WA: Regulation of virulence of *Entamoeba histolytica*. *Annu Rev Microbiol* 2014;68:493.

Mendes C, *et al.,* Duffy negative antigen is no longer a barrier to *Plasmodium vivax* – Molecular evidences from the African west coast (Angola and Equatorial Guinea). *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(6):e1192.

Montoya JG, Remmington JS: Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clin Infect Dis* 2008;47:554.

Ortega YR, Sanchez R: Update on *Cyclospora cayetanensis*, a foodborne and waterborne parasite. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:218.

Rosenthal PJ: Chapter 52, Antiprotozoal drugs. In Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (editors). *Basic and Clinical Pharmacology*, 12a. ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2012.

Seder RA, *et al.,* Protection against malaria by intravenous immunization with a nonreplicating sporozoite vaccine. *Science* 2013;341:1359.

The RTS,S Clinical Trials Partnership: Efficacy and safety of the RTS,S/AS01 malaria vaccine during 18 months after vaccination: A Phase 3 randomized, controlled trial in children and young infants at 11 african sites. *PLoS Med* 2014;11(7):e1001685.

World Health Organization: Leishmaniasis 2014 (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/).

World Health Organization: World Malaria Report 2013 (http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/wmr2013_no_profiles.pdf?ua=1).

SECCIÓN VII DIAGNÓSTICO MÉDICO MICROBIOLÓGICO Y CORRELACIÓN CLÍNICA

CAPÍTULO 47

Principios de diagnóstico médico microbiológico

La microbiología médica diagnóstica se ocupa del diagnóstico etiológico de las infecciones. Los métodos de laboratorios usados en el diagnóstico de dichas enfermedades en los seres humanos incluyen:

1. Identificación morfológica del agente en muestras o cortes de tejidos teñidos (observados con microscopio de luz o electrónico).
2. Detección del patógeno en muestras obtenidas del paciente por medio de identificación de antígeno (aglutinación en látex, enzimoinmunoanálisis y otras técnicas), o pruebas con ácido nucleico (hibridación con ácido nucleico, reacción en cadena de polimerasa [PCR, *polymerase chain reaction*], secuenciación, entre otras).
3. Aislamiento de cultivo e identificación del agente. Si se consideran adecuados, se pueden practicar antibiogramas propios de cada microorganismo por cultivo o por técnicas con ácido nucleico.
4. Demostración de respuestas inmunitarias importantes mediadas por anticuerpos o células, contra un agente infeccioso.

En el terreno de la infectología, los resultados de pruebas de laboratorio dependen en gran medida de la buena calidad de la muestra, la fecha oportuna y el cuidado con que se obtuvo y se transportó, así como de la eficiencia y la experiencia técnicas del personal de laboratorio. Si bien muchos médicos son competentes en la práctica de algunos métodos sencillos y definitivos de tipo microbiológico (realizar preparaciones microscópicas frescas directas de algunos especímenes, hacer pruebas de tinción de Gram y examinarlas con el microscopio o inocular la muestra en un medio de cultivo), los detalles de los métodos más complejos casi siempre son del dominio de microbiólogos expertos. Los médicos que tratan cuadros infecciosos deben saber el momento y la forma de obtener las muestras, el tipo de pruebas de laboratorio que han de solicitar y la forma de interpretar los resultados.

Este capítulo se ocupa de los aspectos de la microbiología diagnóstica en enfermedades originadas por bacterias, hongos, clamidias y virus. El diagnóstico de parasitosis se expuso en el capítulo 46.

COMUNICACIÓN ENTRE EL MÉDICO Y EL LABORATORIO

La microbiología diagnóstica comprende la identificación y la definición de miles de microorganismos que causan enfermedades infecciosas o que están vinculados con ellas. Las técnicas para definir los agentes infecciosos varían en gran medida con cada síndrome clínico y con el tipo de microorganismo en consideración, sean virus, bacterias, hongos u otros parásitos. Con una sola prueba será imposible el aislamiento o la definición de todos los agentes patógenos posibles y por ello la información clínica adquiere mayor importancia en la microbiología diagnóstica, que en la bioquímica o la hematología clínica. El médico debe elaborar un diagnóstico preliminar y no esperar a que se obtengan los resultados de los análisis de laboratorio. Cuando se solicitan tales procedimientos, debe señalarse al personal de laboratorio el diagnóstico anticipado (tipo de infección o agente infeccioso sospechado). El etiquetado preciso de las muestras incluye los datos clínicos en cuestión y también los que identifican a cada paciente (como mínimo, dos métodos de identificación definitiva), el nombre del médico solicitante y la información pertinente para el contacto.

Muchos microorganismos patógenos proliferan con lentitud y pueden transcurrir días o semanas para su aislamiento e identificación. Será mejor no diferir el tratamiento mientras se completa el proceso mencionado. Después de obtener las muestras apropiadas y de señalar al personal de laboratorio el diagnóstico clínico preliminar, el médico comienza el tratamiento con fármacos que combatan el microorganismo que, en su opinión, ha causado la enfermedad. Conforme dicho personal comienza a obtener resultados, se los transmitirá al médico, que en ese

apter 47_Carroll_4R.indd 741 15/04/16

momento puede revalorar el diagnóstico y la evolución clínica de su paciente y tal vez cambiar el plan terapéutico. Esta información "de retroalimentación" desde el laboratorio comprende los informes preliminares de los resultados de etapas individuales en el aislamiento y la identificación del agente causal.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR BACTERIAS Y HONGOS

Muestras

Los métodos de laboratorio por lo común comprenden el estudio microscópico de materiales obtenidos en fresco sin teñir y con tinción, así como la preparación de cultivos con medios idóneos para la proliferación de agentes muy diversos, incluido el tipo de microorganismo que muy probablemente causa la enfermedad, con base en los datos clínicos. Una vez aislado el microorganismo, se intenta su identificación cabal. Los agentes aislados se someten a pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos (antibiograma). Una vez aislados los microorganismos patógenos importantes, antes del tratamiento, quizá sea conveniente que se repitan análisis de laboratorio como formas de vigilancia durante el plan terapéutico y después de concluirlo.

La muestra obtenida de la manera más adecuada constituye el elemento más importante para el diagnóstico de una infección, porque los resultados de los procedimientos de ese tipo, en el caso de enfermedades infecciosas, dependen de la selección, la fecha adecuada y los métodos de recolección de muestras. Las bacterias y los hongos proliferan y mueren, son susceptibles a muchas sustancias químicas y pueden hallarse en sitios anatómicos diversos y en líquidos y tejidos corporales diferentes en el curso de las enfermedades infecciosas. El aislamiento del microorganismo asume tanta importancia en la confirmación de un diagnóstico que la muestra debe obtenerse del sitio con mayores probabilidades de incluirlo en la etapa particular de la enfermedad, y aquella debe manejarse de forma tal que permita y facilite la supervivencia y la proliferación del agente. En los párrafos siguientes y más adelante en el apartado de Diagnóstico de infección según el sitio anatómico, se señalan las sugerencias para un manejo óptimo de cada tipo de muestra.

El aislamiento de las bacterias y los hongos tiene máxima importancia si el agente se obtiene de un sitio en el cual, de modo normal no hay microorganismos (un área estéril). Cualquier tipo de microorganismo cultivado de sangre y líquidos cefalorraquídeo (LCR) o sinovial o de las cavidades pleural o peritoneal constituye un dato diagnóstico importante. Por lo contrario, muchas zonas del cuerpo normalmente tienen microbiotas (capítulo 10) que pueden ser alteradas por influencias endógenas o exógenas. Es importante considerar dentro del contexto de las microbiotas normales de cada sitio particular, el aislamiento de posibles agentes patógenos de vías respiratorias, tubo digestivo o genitourinarias, así como de heridas o la piel. Es necesario establecer correlación de los datos microbiológicos con la información clínica y así obtener una interpretación significativa de los resultados.

Algunas normas generales válidas para todas las muestras son:

1. La cantidad del material debe ser adecuada.
2. La muestra debe ser representativa del cuadro infeccioso (p. ej., esputo, no saliva; pus de la lesión subyacente y no de un trayecto fistuloso; material para frotis del plano profundo de la herida y no de su superficie).
3. Es necesario no contaminar la muestra y para ello habrá que utilizar sólo equipo estéril y técnicas asépticas.
4. La muestra debe ser transportada de inmediato al laboratorio y allí analizarla. Quizá sean necesarios medios especiales de transporte.
5. Es importante contar con muestras suficientes para diagnosticar infecciones bacterianas y micóticas, antes de administrar cualquier antibiótico. Si se administran dichos fármacos antes de obtener muestras para estudio microbiológico, habrá que interrumpir la farmacoterapia y repetir la obtención varios días después.

El tipo de muestra por estudiar depende del cuadro clínico inicial. Si los síntomas y los signos denotan la afectación de cualquier órgano o sistema, las muestras se toman de esa fuente. En caso de no haber signos o síntomas de localización, en primer lugar se obtienen muestras repetidas de sangre y se considera la recolección en serie de muestras de otros sitios, según la zona en que hay mayor posibilidad de afectación de un órgano o sistema particular en un paciente preciso y, en parte, según la facilidad para obtener dichas muestras.

Análisis microscópico y tinciones

El estudio microscópico de muestras teñidas o no teñidas es un método relativamente sencillo y económico, pero menos sensible que el cultivo para la detección de un número pequeño de bacterias. La muestra debe contener como mínimo 10^5 microorganismos por mililitro para detectar los microorganismos en un frotis. El medio líquido que contiene 10^5 microorganismos por mililitro no es turbio a simple vista. Las muestras que presentan 10^2 a 10^3 microorganismos por mililitro permiten la proliferación de éstos en medios sólidos y las que tienen 10 bacterias o menos por mililitro pueden inducir la proliferación en medios líquidos.

La tinción con el método de Gram es una técnica muy útil en la microbiología diagnóstica. En los casos con sospecha de infección bacteriana, la mayoría de las muestras debe colocarse en laminillas (portaobjetos), teñirse con el método de Gram y estudiarse de forma microscópica. En el cuadro 47-1, se señalan los materiales y el método para efectuar tal tinción. En el análisis microscópico, se identifica en primer lugar la reacción de Gram en las bacterias (el color azul violáceo denota la presencia de microorganismos grampositivos; el color rojo, gramnegativos) y sus características estructurales (formas: cocos, bacterias, fusiformes u otras; capítulo 2). Además, es importante detectar y cuantificar la presencia o la ausencia de células inflamatorias y su tipo. De forma similar, tal vez sea útil la presencia de material en apariencia no inflamatorio, como las células del epitelio pavimentoso de una muestra de vías respiratorias o una herida, para valorar lo adecuado de la obtención de muestras. El aspecto de las bacterias en los frotis teñidos con el método de Gram no permite identificar la especie. Los cocos grampositivos sugieren (pero no son prueba definitiva) la presencia de especies de estreptococos; los cocos grampositivos en cúmulos indican especies de estafilococos. Los bacilos gramnegativos pueden ser grandes, pequeños o incluso corresponder a cocobacilos. Algunas

CUADRO 47-1 Métodos de tinción de Gram y para acidorresistentes

Tinción de Gram
1) Fijar el frotis con calor o usar metanol
2) Cubrir con colorante cristal violeta (10 a 30 s)
3) Lavar con agua. No secar
4) Contratinción con yodo de Gram (10 a 30 s)
5) Lavar con agua. No secar
6) Decolorar con agitación suave en acetona-alcohol al 30% (10 a 30 s hasta que ya no se desprenda colorante de la laminilla)
7) Lavar con agua. No secar.
8) Cubrir con safranina (10 a 30 s).
9) Lavar con agua y secar con aire o papel secante.

Tinción de Ziehl-Neelsen para acidorresistentes
1) Fijar el frotis con calor
2) Cubrir con carbolfucsina, calentar suavemente 5 min sobre la llama directa (o 20 min en baño María). No se permite que los frotis hiervan o se sequen
3) Lavar con agua desionizada
4) Decolorar con una mezcla de ácido-alcohol al 3.0% (95% de etanol y 3.0% de ácido clorhídrico) hasta que persista un color rosa débil
5) Lavar con agua
6) Aplicar azul de metileno de Löffler durante 1 min como tinción de contraste
7) Lavar con agua desionizada y dejar secar

Tinción de Kinyoun con carbolfucsina
1) Fórmula: 4 g de fucsina básica; 8 g de fenol; 20 ml de alcohol al 95% y 100 ml de agua destilada
2) Teñir el frotis fijado durante 3 min (no se necesita el calor) y seguir los demás pasos de la tinción de Ziehl-Neelsen

bacterias grampositivas no viables captan colorantes como si fueran gramnegativas. De forma típica, se ha definido la estructura bacteriana mediante microorganismos que proliferan en agar. Sin embargo, se advierte enorme variación en las características morfológicas de bacterias en líquidos o tejidos corporales.

Es necesario emplear tinciones para microorganismos acidorresistentes en todas las muestras enviadas para la búsqueda de micobacterias. En estos casos, hay que usar colorantes fluorescentes muy sensibles para detectarlas, como la auramina-rodamina. Por lo regular, la confirmación de que un microorganismo capta el colorante fluorescente se consigue con alguna de las tinciones no fluorescentes para acidorresistentes, como la de **Ziehl-Neelsen** o la de **Kinyoun** (cuadro 47-1). Estas tinciones se utilizan en vez de las fluorescentes para detectar micobacterias en laboratorios que no cuentan con microscopios fluorescentes (capítulo 23). La **tinción con anticuerpos inmunofluorescentes (IF)** es útil para la identificación de muchos microorganismos. La técnica en cuestión es más específica que otras de tinción, pero su realización es más lenta y difícil. Los anticuerpos marcados con fluoresceína de uso común se elaboran a partir de antisueros obtenidos al inyectar animales con microorganismos completos o mezclas enteras de antígenos. Los **anticuerpos policlonales** resultantes pueden reaccionar a múltiples antígenos en el agente que se inyectó y quizá también presenten reacciones cruzadas con antígenos y otros microorganismos o tal vez con células de origen humano en la muestra. El control de calidad es importante para llevar al mínimo la tinción IF inespecífica. El empleo de **anticuerpos monoclonales** puede evitar el problema de las tinciones inespecíficas. La técnica de IF es muy útil para confirmar la presencia de microorganismos específicos, como *Bordetella pertussis o Legionella pneumophila* en colonias aisladas en medios de cultivo. La tinción IF directa en muestras de pacientes es más difícil y menos específica y la han sustituido en gran medida las técnicas de amplificación de ácido nucleico (NAAT, *nucleic acid amplification techniques*).

Colorantes como el calcoflúor blanco, la metenamina argéntica, Giemsa y a veces el ácido peryódico y colorante de Schiff (PAS, *periodic acid Schiff*) y otros más se utilizan en muestras de tejido y de otro tipo en que están presentes hongos u otros parásitos. Los colorantes mencionados no son específicos de algún microorganismo particular, pero pueden definir su estructura para que se utilicen criterios morfológicos en la identificación. El calcoflúor blanco se une a la celulosa y la quitina en las paredes de los hongos, que mostrarán fluorescencia a la longitud de onda de la luz ultravioleta. Con él se demuestran contornos morfológicos que son característicos o diagnósticos de la especie (p. ej., las esférulas en las endosporas en caso de infección por *Coccidioides immitis*). Los quistes de *Pneumocystis jiroveci* se identifican gracias a sus características estructurales en muestras teñidas con plata. El PAS se utiliza para teñir cortes de tejido si se sospecha una micosis. Después del aislamiento primario de los hongos, se emplean colorantes, como el azul de lactofenol (algodón), para diferenciar la proliferación de hongos e identificar los microorganismos con base en su estructura.

Las muestras en que se intenta identificar hongos se pueden estudiar sin teñir después de tratarlas con una solución de hidróxido de potasio al 10%, la cual disgrega los tejidos que rodean los micelios del hongo; así, se obtiene una imagen mejor de las hifas. En muestras sin teñir, a veces es útil el uso del microscopio de contraste de fase. El microscopio de campo oscuro se utiliza para detectar *Treponema pallidum* de material obtenido de lesiones sifilíticas primaria o secundaria u otras espiroquetas como *Leptospira*.

Sistemas de cultivo

En la bacteriología diagnóstica, se necesita usar tipos diversos de medios para el cultivo corriente, en particular si los posibles microorganismos incluyen bacterias aerobias, anaerobias facultativas y anaerobias estrictas. En el cuadro 47-2, se incluyen las muestras y los medios de cultivo utilizados para diagnosticar las infecciones bacterianas más comunes. El medio corriente para las muestras es el agar en sangre, que casi siempre se elabora con 5% de sangre de carnero; en él proliferan muchos microorganismos aerobios y anaerobios facultativos. El agar chocolate, medio que contiene sangre calentada, con complementos o sin ellos, es el segundo medio necesario; algunos microorganismos no proliferan en el agar con sangre, incluidos *Neisseria* y *Haemophilus* patógenos, pero que sí se multiplican en el agar con sangre cocida. Un medio selectivo para los bacilos gramnegativos entéricos (agar de MacConkey o agar eosina-azul de metileno [EMB, *eosin-methylene blue*]) es el tercer tipo de medio que se utiliza en el trabajo diario. Estos polímeros contienen indicadores que permiten diferenciar los microorganismos fermentadores de lactosa, de los que no la fermentan. Las muestras por cultivar para identificar anaerobios estrictos deben ser colocadas en medios para ellos, como el agar para brucela, un medio complementado abundantemente con hemina y vitamina K, o un medio selectivo que contenga sustancias que inhiban la proliferación de bacilos entéricos gramnegativos y cocos grampositivos anaerobios o anaerobios facultativos.

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas y comunes

Enfermedad	Muestra	Medios de cultivo	Microorganismos causales comunes	Datos microscópicos usuales	Comentarios
Celulitis cutánea	Material obtenido por biopsia de sacabocado	BA, CA	*Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus*	Ocasionalmente cocos grampositivos	La obtención de material del borde predominante de eritema, permite identificar al microorganismo
Impétigo	Pus, Material de aplicador	BA, CA	*S. pyogenes, S. aureus*	Igual que como se trata la celulitis (ficha anterior) y la faringitis (ficha siguiente)	Suele contener flora cutánea
Úlceras cutáneas profundas	Biopsia por sacabocado; aspiración o biopsia de tejido profundo	BA, CA, MAC/EMB, ANA	Flora mixta	Flora mixta	Suele contener flora mixta y flora de vías gastrointestinales en las úlceras de la mitad inferior del cuerpo
Meningitis	LCR	BA, CA	*Neisseria meningitidis*	Diplococos intracelulares gramnegativos	Adolescentes y adultos jóvenes
			Haemophilus influenzae	Cocobacilos gramnegativos pequeños	Adolescentes, adultos jóvenes
			Streptococcus pneumoniae	Cocos grampositivos en pares	Adolescentes, adultos jóvenes
			Estreptococos del grupo B	Cocos grampositivos en pares y cadenas	Lactantes
			Escherichia coli, otras especies de *Enterobacteriaceae*	Bacilos gramnegativos	Lactantes
			Listeria monocytogenes	Bacilos grampositivos	Personas inmunodeficientes, embarazadas, lactantes; hemolíticos β
Absceso cerebral	Pus	BA, CA, MAC / EMB, ANA	Infección mixta; cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos anaerobios, cocos grampositivos aerobios	Cocos grampositivos o flora mixta	La muestra debe obtenerse con alguna técnica quirúrgica y se transportará en un medio para anaerobios
Absceso peribucal	Pus	BA, CA, MAC / EMB, ANA	*S. aureus, S. pyogenes, Actinomyces*	Flora mixta	Po lo común infección bacteriana mixta; suele contener flora de la boca
Faringitis	Material obtenido por aplicador	BA, CA, medios especiales para *Corynebacterium diphteriae*	*S. pyogenes*	No se recomienda	Hemolíticos β
			C. diphteriae	No se recomienda	Casos de sospecha clínica; necesita estudios de toxicidad por difteria.
Tos ferina (pertusis)	Material de NP obtenido con aplicador; material nasal obtenido por lavado/aspiración, BAL	Agar de Regan-Lowe	*Bordetella pertussis*	No se recomienda	El método con anticuerpos fluorescentes identifica los microorganismos obtenidos del cultivo y en ocasiones en frotis directas; PCR es más sensible que el cultivo

(*continúa*)

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas y comunes (*continuación*)

Enfermedad	Muestra	Medios de cultivo	Microorganismos causales comunes	Datos microscópicos usuales	Comentarios
Epiglotitis	Material obtenido por aplicador	BA, CA	*H. influenzae*	Por lo común no es útil	*H. influenzae* es parte de la microbiota normal de la nasofaringe
Neumonía	Esputo, BAL	BA, CA, MAC / EMB	*S. pneumoniae*	Muchos PMN, cocos grampositivos en pares o cadenas. Se puede necesitar cápsula	*S. pneumoniae* es parte de la microbiota normal de la nasofaringe. Los hemocultivos muestran positividad en 10 a 20% de los pacientes
			S. aureus	Cocos grampositivos en cúmulos	Causa poco común de neumonía. Por lo común se trata de microorganismos hemolíticos β, coagulasa positivos
			Enterobacteriaceae y otros bacilos gramnegativos	Bacilos gramnegativos	Neumonía de origen nosocomial o de origen alcohólico
		Agregar ANA	Anaerobios y aerobios mixtos	Flora mixta de vías respiratorias; a veces muchos PMN	Neumonitis por broncoaspiración que a menudo se acompaña de derrame/ absceso pleural
Empiema torácico	Líquido pleural	BA, CA, MAC/EMB, ANA	Datos iguales que en la neumonía o en infección por flora mixta	Flora mixta	Por lo común neumonía; flora aerobia y anaerobia mezcladas y provenientes de la bucofaringe
Absceso hepático	Líquido del absceso	BA, CA, MAC/EMB, ANA	*E. coli*, *Bacteroides fragilis*; flora aerobia o anaerobia mixta	Bacilos gramnegativos y flora mixta	Por lo común aerobios y anaerobios gramnegativos entéricos; pensar en infección por *Entamoeba histolytica*
Colecistitis	Bilis	BA, CA, MAC/EMB, ANA	Aerobios entéricos gramnegativos y también *B. fragilis*	Bacilos gramnegativos	Por lo común bacilos gramnegativos provenientes del tubo digestivo
Absceso abdominal o perirrectal	Líquido del absceso	BA, CA, MASC/EMB, ANA	Flora gastrointestinal	Flora mixta	Flora aerobia y anaerobia de los intestinos; con frecuencia proliferan más de cinco especies
Tifoidea, fiebre intestinal	Sangre, heces, orina	BA, CA, MAC/EMB, Hektoen, agar entérico	*Salmonella* serovariedad Typhi	No se recomienda	Es necesario cultivar múltiples muestras; hay negatividad a la lactosa y positividad de H_2S
Enteritis, enterocolitis, diarreas bacterianas	Heces	MAC/EMB, Hektoen, agar entérico, agar para *Campylobacter*	Especies de *Salmonella*	Con la tinción de Gram o el azul de metileno se pueden detectar PMN	Colonias que no fermentan lactosa, en medios inclinados con TSI; las salmonelas no tifoídicas producen ácidos y gases en tubo invertido de Durhan para fermentación ,medio alcalino inclinado y H_2S

(*continúa*)

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas y comunes (*continuación*)

Enfermedad	Muestra	Medios de cultivo	Microorganismos causales comunes	Datos microscópicos usuales	Comentarios
			Especies de *Shigella*	Con la tinción de Gram o el azul de metileno se pueden detectar PMN. Con tinción de Gram o con azul de metileno se pueden detectar PMN	Colonias que no fermentan lactosa, en medios inclinados con TSI; las shigelas producen medio alcalino inclinado pero tubo invertido para fermentación de ácido sin gas o H_2S
			Campylobacter jejuni	Bacilos gramnegativos "en forma de alas de gaviota" y a menudo PNM	Incubar a 42 °C en gas para *Campylobacater*, colonias oxidasa-positivas; los frotis indican la presencia de bacilos "en forma de alas de gaviota"
		Agregar agar TCBS	*Vibrio cholerae*	No se recomienda	Casos clínicamente sospechosos; colonias amarillas en TCBS; *V. cholerae* es oxidasa positivo
		Agregar agar TCBS	Otras especies de *Vibrio*	No se recomienda	Diferenciar de *V. cholerae* por medios bioquímicos y de cultivo
		Agregar agar CIN	*Yersinia enterocolitica*	No se recomienda	Enriquecer a 4 °C es útil; incubar los cultivos a 25 °C
Colitis hemorrágica y síndrome hemolítico–urémico	Heces	MAC/EMB, agar sorbitol de MacConkey	*E. coli* O157:H7 y otros serotipos	No se recomienda	Buscar colonias sorbitol-negativas; tipificar con antisueros contra el antígeno O 157 y el antígeno 7 flagelar; también EIA o PCR para detectar toxinas similares a shiga
Infección de vías urinarias	Orina (orina limpia de mitad de chorro; sondeo vesical o aspiración suprapúbica)	BA, MAC/EMB	*E. coli*; especies de *Enterobacteriaceae*; otros bacilos gramnegativos	Bacilos gramnegativos identificados en frotis teñidos de orina no centrifugada que indican más de 10^5 microorganismos/ml	Cultivo semicuantitativo para conocer el número de bacterias en orina (carga); bacilos gramnegativos indol positivos como *E. coli*; otras sustancias obligan a más estudios bioquímicos; en el análisis de orina se identifican leucocitos, nitratos o ambos

(*continúa*)

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas y comunes (*continuación*)

Enfermedad	Muestra	Medios de cultivo	Microorganismos causales comunes	Datos microscópicos usuales	Comentarios
Uretritis/cervicitis	Material obtenido por hisopo	BA, CA, agar de Thayer-Martin modificado	*Neisseria gonorrhoeae*	Diplococos gramnegativos intracelulares en PMN. Es un estudio específico en busca de *N. gonorrhoeae* en varones y menos fidedigno en mujeres	La positividad del frotis teñido es un dato diagnóstico en varones. Los métodos con ácido nucleico son más sensibles que el cultivo
		Rara vez se practica el cultivo	*Chlamydia trachomatis*	PMN sin diplococos gramnegativos acompañantes	Los estudios con ácidos nucleicos son más sensibles que el cultivo
Úlceras en genitales	Material obtenido con hisopos. Líquido aspirado de ganglios linfáticos	BA, CA, agar de Thayer-Martin modificado	*Haemophilus ducreyi* (chancroide)	Flora mixta	Microorganismo difícil de cultivar y el diagnóstico suele hacerse sobre bases clínicas
			Treponema pallidum (sífilis)	El estudio en campo oscuro o con anticuerpos fluorescentes detecta las espiroquetas pero rara vez se le practica	No se realizan cultivos y el diagnóstico se hace sobre bases serológicas (reagina plasmática rápida [RPR]; prueba de VDRL, métodos específicos para detectar anticuerpos contra treponemas
			C. trachomatis, serovariedades de linfogranuloma venéreo (LGV)	PMN sin diplococos gramnegativos acompañantes	El diagnóstico se hace gracias al estudio con ácido nucleico en busca de *C. trachomatis*; la serovariedad LGV se diagnostica por métodos serológicos
Enfermedad inflamatoria pélvica	Material cervicouterino obtenido con hisopos; material de aspiración de aparato genital	BA, CA, agar de Thayer-Martin modificado	*N. gonorrhoeae*	PMN con diplococos gramnegativos acompañantes; puede haber flora mixta	Las pruebas con ácido nucleico son más sensibles que los cultivos
			C. trachomatis	PMN sin diplococos gramnegativos acompañantes	Las pruebas con ácido nucleico son más sensibles que el cultivo
		Agregar ANA	Flora mixta	Flora mixta	Por lo regular combinaciones de bacterias anaerobias y aerobias
Artritis	Líquido sinovial	BA, CA	*S. aureus*	Cocos grampositivos en racimos	Coagulasa-positivos; por lo común β-hemolíticos
		Agregar medio modificado de Thayer-Martin	*N. gonorrhoeae*	Diplococos gramnegativos en PMN	
		Agregar ANA	Otros	Morfología variable	Incluyen estreptococos, bacilos gramnegativos y anaerobios

ANA, agar para anaerobios (agar para Brucella); BA, agar con sangre; BAL, líquido de lavado broncoalveolar; CA, agar con sangre cocida; CIN, medio con cefsulodina-irgasan-novobiocina; EIA, enzimoinmunoanálisis; EMB, agar-azul de metileno; MAC, agar de MacConkey; TCBS, agar con tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa; TSI, agar con hierro y triple azúcar.

Otros muchos medios especializados se utilizan en la bacteriología diagnóstica y su selección depende del diagnóstico clínico y del microorganismo en estudio. El personal de laboratorio elige los medios específicos con base en la información que el médico aportó en la solicitud del cultivo. De ese modo, el medio fresco de Bordet-Gengou o el que contiene carbón vegetal se utilizan para cultivar *B. pertussis* en el diagnóstico de la tos ferina y se usan otros medios especiales para cultivar *Vibrio cholerae, Corynebacterium diphtheriae, Neisseria gonorrhoeae* y *Campylobacter.* Se utilizan a menudo medios sólidos y líquidos especiales para el cultivo de micobacterias. Estos medios pueden contener inhibidores de la proliferación de otras bacterias. Muchos microorganismos de este tipo proliferan con lentitud y por ello es necesario incubar los cultivos y estudiarlos de forma periódica, durante semanas (capítulo 23).

Los cultivos en caldo, que son medios altamente enriquecidos, son importantes como formas de "respaldo" de los resultados de los tejidos para biopsia y líquidos corporales, como el LCR. Con los caldos se pueden obtener resultados positivos si no proliferan los microorganismos en medios sólidos, ante el escaso número de bacterias que tiene el inóculo (véase antes).

Muchas levaduras proliferan en agar con sangre. Los hongos en fase bifásica y de micelio crecen mejor en los medios elaborados de modo específico para hongos. El agar con infusión de cerebro-corazón con antibióticos y sin ellos, y el agar para inhibir mohos han sustituido en gran medida al empleo tradicional del agar-glucosado de Sabouraud para la proliferación de hongos. Los medios elaborados con materiales vegetales y de plantas que constituyen el hábitat natural de muchos hongos permiten también la multiplicación de muchos hongos patógenos. Los cultivos para hongos casi siempre se expenden en juegos pares y un juego es incubado a 25 a 30 °C y el otro a 35 a 37 °C. En el cuadro 47-3, se señalan las muestras y otras técnicas para utilizar en el diagnóstico de las micosis.

Además de los medios corrientes y selectivos mencionados, se cuenta con agares que incorporan antibióticos y sustratos en enzimas cromógenas que dan color a microorganismos específicos de interés, como *S. aureus* resistente a meticilina y *Candida,* entre otros. Los medios en cuestión, más costosos, mejoran la sensibilidad al inhibir microbiota "nativa" y al permitir que el agente patógeno de interés se identifique con mayor facilidad. De manera típica, los agares cromógenos se utilizan para muestras como las de cultivos de vigilancia y de orina.

Detección de antígeno

En el diagnóstico de infecciones específicas, es posible usar sistemas inmunitarios diseñados para detectar antígenos de microorganismos. Los métodos de IF directos e indirectos constituyen formas de detección de antígeno y se señalan en secciones separadas de este capítulo así como en los capítulos sobre los microorganismos específicos.

Los **EIA**, incluidos el **enzimoinmunoanálisis de adsorción** (**ELISA**, **enzyme–linked immunosorbent assay**) y las pruebas de aglutinación, se utilizan para detectar antígenos de agentes infecciosos presentes en muestras clínicas. Aquí se describen de forma somera los principios de dichas pruebas.

Hay innumerables variaciones de EIA para detectar antígenos. Un formato de uso frecuente es la fijación de un anticuerpo de captura, específico para el antígeno en cuestión, a las paredes del equipo de material plástico para microdilución. La muestra que contiene el antígeno se incuba en los cuencos y después éstos se lavan. Para encontrar el antígeno, se utiliza un segundo anticuerpo para el antígeno marcado con la enzima. La adición del sustrato correspondiente a la enzima permite hallar el antígeno fijado, gracias a una reacción colorimétrica. Una modificación considerable de los EIA es la creación de formatos de membrana inmunocromatográficos para detectar antígenos. En dicho formato, se utiliza una membrana de nitrocelulosa que absorbe el antígeno presente en la muestra. En la membrana, surge directamente una reacción colorimétrica, con la adición seriada de conjugado, seguido por el sustrato. En algunos formatos, el antígeno es captado por el anticuerpo fijado, dirigido contra dicho antígeno. Los métodos en cuestión poseen la ventaja de su rapidez y de incluir un control positivo autointegrado. Los EIA se utilizan para detectar antígenos de virus, bacterias, clamidias, protozoos y hongos en diversos tipos de muestras, como heces, LCR, orina y material obtenido de vías respiratorias. Se muestran ejemplos de ellos en los capítulos que describen los agentes etiológicos específicos.

En los métodos de aglutinación de látex, en las microesferas de este material, se fija el anticuerpo específico para un antígeno (policlonal o monoclonal). Al agregar la muestra química a una suspensión de las cuentas de látex, los anticuerpos se fijan a los antígenos en el microorganismo y así se forma una estructura reticular y se produce la aglutinación de las microesferas. La coaglutinación es similar a la aglutinación de látex, salvo que se utilizan estafilococos con abundante proteína A (cepas Cowan I), en lugar de las partículas de látex; la coaglutinación es menos eficaz para la detección de antígeno, en comparación con la aglutinación de látex, pero es un método útil si se aplica a la identificación de bacterias en cultivos, como *S. pneumoniae, Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae* y estreptococos β hemolíticos.

Con los métodos de aglutinación de látex, se busca hallar de modo fundamental antígenos de carbohidratos de microorganismos encapsulados. La detección antigénica se utiliza más a menudo en el diagnóstico de la faringitis por estreptococo del grupo A. La detección del antígeno de criptococo es útil para diagnosticar la meningitis por dicho microorganismo en sujetos con sida u otras enfermedades inmunodepresoras.

La sensibilidad de los métodos de aglutinación del látex en el diagnóstico de meningitis bacteriana tal vez no sea mejor que la de la tinción de Gram, que es en promedio de 100 000 bacterias por mililitro. Por esa causa no se recomienda usar el método de aglutinación de látex para estudios en muestras directas de líquido cefalorraquídeo.

Métodos serológicos

La detección de anticuerpos específicos contra agentes infecciosos, es útil para el diagnóstico de infecciones agudas o crónicas y para investigar los aspectos epidemiológicos de enfermedades infecciosas. En el transcurso de la enfermedad en primer lugar se producen anticuerpos de tipo IgM, y más adelante, IgG. Se debe tener cuidado al interpretar los resultados positivos de IgM, es decir, su presencia, porque las técnicas en cuestión presentan reactividad cruzada y pueden generar resultados positivos falsos. Con el transcurso del tiempo, las técnicas serológicas son las más

CUADRO 47-3 Micosis y nocardiosis comunes: entidades y microorganismos, tipo de muestras y métodos diagnósticos

	Tipo de muestra	Estudios serológicos y de otro tipo	Comentarios
Micosis invasoras (profundas)			
Aspergilosis: *Aspergillus fumigatus* y otras especies de *Aspergillus*			
Pulmonar	Esputo, BAL	Cultivo, métodos de galactomananos en BAL/suero	Es importante diferenciar la colonización, de la infección
Diseminado	Muestra de biopsia, sangre	Igual que la anterior	Es difícil cultivar y Aspergillus de sangre y líquidos corporales de pacientes con infección diseminada
Blastomicosis: *Blastomyces dermatitidis*			
Pulmonar	Esputo, BAL	Cultivo, estudios serológicos	El estudio serológico es útil para identificar la exposición; para el diagnóstico definitivo se necesita cultivo; las levaduras muestran gemación de base ancha
Úlceras de boca y piel	Biopsia o muestra obtenida por hisopos	Cultivo, estudios serológicos	
Hueso	Biopsia de hueso	Cultivo, estudios serológicos	
Coccidioidomicosis: *Coccidioides immitis*			
Pulmonar	Esputo, BAL	Cultivo, serología	Los estudios serológicos suelen ser más sensibles que el cultivo; después de la inmunodifusión positiva pueden medirse las concentraciones de fijación de complemento; *C. immitis* puede proliferar en cultivos sistemáticos para bacterias y conlleva el riesgo de exposición en el laboratorio
Diseminado	Tipo de muestra de biopsia, LCR	Igual que el anterior	
Histoplasmosis: *Histoplasma capsulatum*			
Pulmonares	Esputo, BAL	Cultivo, estudios serológicos y prueba para detectar antígeno en orina	Las pruebas serológicas son útiles para conocer la exposición; para el diagnóstico definitivo se necesita cultivo
Diseminado	Médula ósea, pieza de biopsia	Igual que el anterior	El estudio histopatológico señala pequeñas formas intracelulares de levadura que se diferencian de *Leishmania* porque no tienen cinetoplasto
Nocardiosis: *Complejo de Nocardia asteroides* y otras especies de *Nocardia*			
Pulmonares	Esputo, BAL	Cultivo, tinción para acidorresistente modificada	Las nocardias son bacterias cuyo comportamiento clínico se asemeja al de los hongos; son débilmente acidorresistentes, y son bacilos grampositivos ramificados y filamentosos
Subcutánea	Material de aspiración o material de biopsia de abscesos		
Cerebro	Material de absceso cerebral		
Paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana): *Paracoccidioides brasiliensis*			
	Muestra de biopsia	Cultivo, método serológico	El método serológico es útil para identificar exposición y se necesita cultivo para el diagnóstico definitivo

(*continúa*)

CUADRO 47-3 Micosis y nocardiosis comunes: entidades y microorganismos, tipo de muestras y métodos diagnósticos (*continuación*)

	Tipo de muestra	Estudios serológicos y de otro tipo	Comentarios
Esporotricosis: *Sporothrix schenckii*			
Piel y nódulos subcutáneos	Muestra de biopsia	Cultivo, métodos serológicos	Contacto con tierra y medio de jardinería
Diseminada	Muestra de biopsia		
Zigomicosis: especies de *Rhizopus* y *Mucor*, otros patógenos			
Rinocerebral	Tejido nasal - orbitario	Cultivo	Hifas no tabicadas detectadas en cortes microscópicos
Cutáneo: pulmonares y diseminadas	Esputo, BAL, muestras de biopsia	Cultivo	
Infecciones por levaduras			
Candidosis: *Candida albicans* y otras especies de *Candida*[a]			
Membranas mucosas	Hisopo con material de la boca, o de vagina, muestra de biopsia	Cultivo, preparado húmedo para levaduras	La candidosis vaginal se diagnostica sobre bases clínicas y tinción de Gram (criterio de Nugent)
Piel	Hisopo, muestra de biopsia	Cultivo	
Sistémico	Sangre, muestra de biopsia, orina	Cultivo	*Candida* y otras especies de levaduras proliferan satisfactoriamente en los cultivos corrientes para bacterias
Criptococosis: *Cryptococcus neoformans*			
Pulmonar	Esputo, BAL	Cultivo, antígeno criptococócico	Más común en pacientes inmunodeficientes
Meningitis	LCR	Cultivo, antígeno criptococócico	
Diseminado	Médula ósea, huesos, sangre y otros tejidos	Cultivo, antígeno criptococócico	
Infecciones cutáneas primarias			
Dermatofitosis: especies de *Microsporum, Epidermophyton, Trichophyton*			
	Cabello, piel, uñas de sitios infectados	Cultivo	Se necesitan agares especializados para dermatofitos

[a] *Candida tropicalis, Candida parapsilosis, Candida glabrata* y otras especies de *Candida.*
BAL, líquido broncoalveolar; CF, fijación de complemento; LCR, líquido cefalorraquídeo; EIA, enzimoinmunoanálisis.

útiles al estudiar sueros de fase aguda y de convalecencia para identificar incrementos de las concentraciones de anticuerpos.

Se dispone de diversas cuantificaciones serológicas que incluyen la de inmunofluorescencia directa, aglutinación, fijación de complemento (CF), y los formatos EIA y ELISA. Se dispone también de inmunoanálisis inespecíficos como el método de heterófilos para identificar mononucleosis por EBV y la reagina plasmática para detectar sífilis. Algunos de los métodos miden concentraciones de anticuerpos al realizar diluciones en el suero del paciente y así conocer la más baja en que surge la reactividad.

Métodos de inmunotransferencia

Éstos por lo común se realizan para detectar anticuerpos contra antígenos específicos de un microorganismo particular; se basan en la separación electroforética de grandes proteínas de los microorganismos en cuestión, en un gel de agarosa bidimensional. Por medios mecánicos o químicos, se modifican los microorganismos y el antígeno solubilizado resultante se coloca en un gel de poliacrilamida. Se aplica una corriente eléctrica y las proteínas grandes se separan de acuerdo con su tamaño (las proteínas de menor tamaño viajan con mayor rapidez). Las bandas proteínicas se transfieren a tiras de papel de nicrocelulosa y, después de incubar estas últimas con la muestra del paciente que contiene el anticuerpo (por lo general suero), éste se liga a las proteínas en la tira y se detecta de manera enzimática de una forma semejante a la de los métodos de EIA ya descritos. Los métodos de inmunotransferencia se utilizan como técnicas específicas para detectar anticuerpos en la infección VIH y en la enfermedad de Lyme.

Diagnóstico molecular

A. Sondas de hibridación de ácido nucleico

El principio que sustentó estos métodos moleculares fue la hibridación de una sonda de **ácido nucleico** caracterizada, destinada a una secuencia específica de ácidos nucleicos en una muestra analítica, seguida de detección del par de híbridos. Por ejemplo, se utilizó la sonda monocatenaria de DNA (o de RNA) para encontrar RNA complementario o DNA desnaturalizado en una muestra de estudio. De forma típica, se marca la sonda de ácido nucleico con enzimas, sustratos antigénicos, moléculas quimioluminescentes o radioisótopos, para facilitar la detección del producto de hibridación. Al seleccionar con cuidado la sonda o sintetizar un **oligonucleótido** específico y realizar la hibridación de una forma muy estricta, la detección del ácido nucleico en la muestra de estudio puede ser notablemente específica. Las pruebas en cuestión se utilizan de preferencia para la identificación rápida de un agente patógeno una vez que se detectó su proliferación, por ejemplo la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en cultivo mediante sonda de DNA. La hibridación *in situ* comprende el empleo de sondas de DNA o de RNA marcadas, para detectar ácidos nucleicos complementarios en tejidos incluidos en parafina y fijados con formol, tejidos congelados o preparados citológicos realizados en laminillas. Desde el punto de vista técnico, esta prueba quizá sea difícil y casi siempre se realiza en laboratorios de histología y no en los de microbiología clínica. Sin embargo, la técnica en cuestión ha ampliado los conocimientos de los aspectos biológicos de innumerables enfermedades infecciosas, en particular las hepatitis y las causadas por virus oncógenos, y es útil aun en el diagnóstico de los trastornos infecciosos. Una técnica nueva que en cierta medida es una modificación de la hibridación *in situ*, usa sondas de ácidos nucleicos y péptidos. Las sondas de este tipo son fragmentos sintetizados de DNA en el cual el esqueleto de fosfato-azúcar del DNA (que tiene normalmente carga negativa), es sustituido por una poliamida de unidades repetitivas (carga neutra). Al esqueleto neutro, se pueden unir bases de nucleótidos individuales, con lo cual la hibridación es más rápida y específica con ácidos nucleicos complementarios. Las sondas son sintéticas y por ello no las degradan las nucleasas ni otras enzimas. Las sondas mencionadas se utilizan para detectar *S. aureus*, enterococos, algunas especies de *Candida* y algunos bacilos gramnegativos, de viales de hemocultivos en que se confirma su presencia (resultado positivo). La hibridación por sondas se detecta por fluorescencia y recibe el nombre de hibridación *in situ* de fluorescencia con ácido nucleico péptido (PNA-FISH, *peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization*).

B. Identificación de bacterias con sondas de hibridación de rRNA 16S

El rRNA 16S de cada especie de bacteria posee zonas estables o conservadas de la secuencia. En cada microorganismo, hay innumerables copias. Se agregan sondas marcadas con especificidad para el rRNA 16S de la especie y se mide la cantidad del producto marcado en el híbrido bicatenario. Esta técnica se utiliza ampliamente para la identificación rápida de muchos microorganismos. Entre los ejemplos están las especies más comunes e importantes de *Mycobacterium, C. immitis, Histoplasma capsulatum* y otras.

Las técnicas diagnósticas moleculares que usan la amplificación del ácido nucleico se han empleado de manera más amplia y tienen una evolución rápida. También se utilizan en diversos tipos de muestras que incluyen las obtenidas de manera directa de pacientes, cultivos positivos y microorganismos aislados. Los sistemas de amplificación se han subdividido en categorías básicas, como se mencionará adelante.

C. Sistemas de amplificación preescogidos

En estos métodos, se amplifica muchas veces el DNA o el RNA preelegidos. La **PCR** se utiliza para amplificar cantidades considerablemente pequeñas de DNA específico que está presente en la muestra clínica y así es posible detectar las cantidades que inicialmente eran muy pequeñas de DNA. La PCR utiliza una DNA polimerasa termoestable para producir una amplificación doble de DNA preseleccionado en cada sitio de temperatura. La PCR corriente, también llamada *detección final de PCR*, utiliza tres reacciones seriadas: desnaturalización, hibridación y extensión del cebador, en la forma en que más adelante se explica. El DNA extraído de la muestra clínica, junto con los oligonucleótidos específicos de los iniciadores, nucleótidos, la DNA polimerasa termoestable y el amortiguador se calientan a 90 a 95 °C para separar o desnaturalizar las dos cadenas del DNA seleccionado. Se disminuye la temperatura de la reacción, por lo común de 45 a 60 °C, con base en los cebadores para permitir la hibridación de éstos con el DNA preseleccionado. Hecho lo anterior, se extiende cada cebador por medio de la DNA polimerasa

termoestable al agregar nucleótidos complementarios del DNA preseleccionado y de esta forma se genera la amplificación doble. El ciclo se repite 30 a 40 veces hasta obtener la amplificación del segmento de DNA preseleccionado, incluso más de 10^{10} tantos. El segmento amplificado se identifica en el gel por electroforesis o se detecta en los análisis de inmunotransferencia mediante sondas de DNA marcadas que son específicas para el segmento o por una variedad de técnicas comerciales de patente. En fecha reciente, los protocolos de PRC de tiempo real han sustituido a estos métodos de detección final (véase más adelante).

La PCR puede realizarse también en segmentos de RNA, método que se ha denominado **PCR de transcriptasa inversa**. Esta enzima se utiliza en la transcripción del RNA en el DNA complementario para amplificación.

A nivel comercial, se cuenta con métodos de PCR para identificar bacterias y virus patógenos muy diversos, como *Chlamydia trachomatis, N. gonorrhoeae, M. tuberculosis*, citomegalovirus (CMV), VIH-1, hepatitis C y otros más. Se conocen otras PCR desarrolladas en laboratorios para diagnosticar infecciones. Estas pruebas son las más indicadas para el diagnóstico de innumerables infecciones, en particular cuando no son útiles las técnicas corrientes de cultivo y detección de antígeno; entre los ejemplos están la búsqueda del virus de herpes simple en LCR para el diagnóstico de encefalitis herpética y la valoración del líquido de lavado nasofaríngeo para identificar una infección por *B. pertussis* (tos ferina).

Un aspecto importante en el caso de los laboratorios que practican métodos de PCR es evitar la contaminación de los reactivos o las muestras con DNA del entorno, que quizás obstaculice la diferenciación entre los resultados positivos verdaderos y los positivos falsos, debido a la contaminación.

D. Técnicas de amplificación de señales

Los métodos en cuestión refuerzan la señal al amplificar el elemento marcador (p. ej., fluorocromos, enzimas) que se agrega al ácido nucleico preseleccionado. El sistema de **DNA ramificado (bDNA, *branched DNA*)** incluye sondas primarias y una secundaria ramificada, marcada con la enzima. Las sondas de oligonucleótidos múltiples, que son específicas para el RNA preseleccionado (o DNA), se fijan a una superficie sólida, como la cubeta de microdilución. Éstas constituyen las sondas de captura. Se agrega la muestra preparada y las moléculas de RNA se unen a la sondas de captura en la bandeja de microdilución. Las sondas adicionales de ese tipo se ligan a la sonda preseleccionada, pero no a la bandeja. Las sondas de amplificación de bDNA marcadas con enzima se agregan y se unen a las sondas preseleccionadas. Se agrega un sustrato quimioluminiscente y la luz emitida se mide para cuantificar la cantidad de RNA preseleccionado presente. Ejemplos de este tipo de técnica incluyen la medición cuantitativa de los virus VIH-1 y de las hepatitis C y B.

E. Métodos de amplificación no basados en PCR

La **amplificación mediada por transcripción** (**TMA**, ***transcription mediated amplification***) y la **amplificación basada en la secuencia de ácido nucleico** (**NASBA**, ***nucleic acid sequence-based amplification***) amplifican grandes cantidades de RNA en métodos isotérmicos que de manera coordinada utilizan las enzimas transcriptasa inversa, RNasa H y RNA polimerasa. Se permite que un cebador oligonucleótido que contiene el promotor de RNA polimerasa se fije al RNA preelegido. La transcriptasa inversa elabora una copia de cDNA monocatenario del RNA. La RNasa H destruye el RNA del híbrido RNA-cDNA y un segundo cebador se empalma al segmento de cDNA. La actividad de DNA polimerasa dependiente de DNA (propia de la transcriptasa inversa) extiende el DNA del segundo cebador y así se genera una copia de DNA bicatenario con RNA polimerasa intacta; esta última después genera muchas copias del RNA monocatenario. Ejemplo del empleo de tales métodos es la detección de *C. trachomatis, N. gonorrhoeae* y *M. tuberculosis,* así como la cuantificación del número de partículas de VIH-1.

Las **técnicas de desplazamiento de cadenas** (**SDA**, ***strand displacement assays***) son métodos de amplificación isotérmica que utilizan endonucleasa restrictiva y DNA polimerasa. La endonucleasa restrictiva "hace muescas" en sitios específicos del DNA y así permite a la DNA polimerasa comenzar la réplica en tales depresiones de la molécula efectora y, de forma simultánea, desplazar la cadena "truncada". Las cadenas desplazadas una a una sirven como plantillas para amplificación adicional.

La **amplificación isotérmica mediada por asas** (**LAMP**, ***loop mediated isothermal amplification***) recibe su nombre porque el producto de amplificación final consiste en una estructura que contiene repeticiones dobles o múltiples de la secuencia efectora. La reacción es isotérmica y consiste en la síntesis de DNA por desplazamiento autocíclico de cadenas y para ello se utiliza el *Bst* de la DNA polimerasa y cuatro a seis cebadores. Los productos de amplificación se detectan en tiempo real al precipitar DNA por adición de pirofosfato de magnesio a la reacción y así crear enturbiamiento que puede captarse y cuantificarse visualmente o con la utilización de un espectrofotómetro. Este método es muy sensible y hace posible detectar incluso 10 copias selectas por reacción. Se cuenta con una técnica comercial que permite un método de LAMP para detectar *C. difficile* en muestras de heces.

F. PCR de tiempo real

Los progresos tecnológicos que han permitido contar con la "amplificación de tiempo real" poseen plataformas de amplificación directa de ácido nucleico, con mejoría de la sensibilidad de las técnicas de amplificación y han disminuido de modo notable la posibilidad de contaminación. Los perfeccionamientos impresionantes en los aspectos químicos de las reacciones de amplificación de ácidos nucleicos han hecho posible contar con mezclas de reacción homogénea, en las cuales se producen compuestos fluorógenos en el mismo tubo de reacción en que ocurre la amplificación. Se utilizan diversas moléculas fluorógenas; éstas incluyen colorantes inespecíficos como el verde de SYBR, que se fija al surco pequeño de DNA bicatenario y métodos de detección específicos con amplicón que utilizan sondas de oligonucleótidos marcadas con sustancias fluorescentes, que pertenecen a tres categorías: sondas TaqMan o de hidrólisis; sondas de transferencia de energía fluorescente (FRET, *fluorescente energy transfer*) y señalamientos moleculares. La señal proveniente de tales sondas es proporcional a la cantidad de DNA de los productos presentes en la reacción; se le grafica comparándola con el ciclo de PCR. El uso de una cifra límite permite diferenciar entre las reacciones positivas y las negativas. La señal se mide gracias al tubo de reacción cerrada que utiliza detectores de fluorescencia; por tal razón, la técnica se realiza en "tiempo real". No es necesario abrir el tubo de reacción

para analizar los productos de PCR en un gel, y por ello existe un riesgo mucho menor de traslado de amplicones para la reacción siguiente. Cuando se utiliza con una curva corriente las técnicas de PCR de tiempo real pueden ser cuantitativas y permiten conocer la concentración o número de microorganismos. Los procedimientos en cuestión suelen utilizarse para cuantificar la carga o número de virus de VIH, de hepatitis C o B y de CMV. El lector debe consultar la bibliografía de Persing *et al*., para información más detallada de PCR de tiempo real y otros métodos moleculares.

G. Secuenciación-PCR

El producto de una reacción de PCR se puede secuenciar y comparar con la base de datos para identificar microorganismos o mutaciones de resistencia. Los cebadores de PCR están diseñados para hibridar regiones genómicas conservadas, y amplificar la secuencia de interés entre uno y otro cebador. Es posible usar diversos métodos de secuenciación, no obstante su estudio está fuera de los objetivos de este trabajo.

Por lo general, en el caso de identificación bacteriana se utiliza la secuenciación del gen rRNA 16S, mismo que posee regiones perfectamente conservadas intercaladas con secuencias variables, de modo que lo tornan ideal para la amplificación y diferenciación de muchas especies bacterianas. Otros genes conservados se utilizan también para identificación bacteriana e incluyen *rpoB, sodA* y *hsp65*. De forma similar, es posible identificar hongos por medio de secuenciación de PCR del gen rRNA 28S y de elementos espaciadores transcritos internos del gen de RBA ribosómico.

La secuenciación de PCR también se utiliza para la tipificación de cepas y detección de mutaciones de resistencia específicas en virus (consúltese Diagnóstico de infecciones virales más adelante). Su empleo se ha ampliado para la caracterización génica de otros microorganismos como la identificación de algunas mutaciones que originan resistencia a la rifampicina o la isoniazida en caso de *M. tuberculosis*.

H. Micromatrices

Las micromatrices de ácido nucleico comprenden el uso de múltiples sondas con oligonucleótidos para detectar la secuencia complementaria preseleccionada en DNA o RNA amplificado. Las matrices pueden tener decenas o cientos de miles de sondas (micromatrices de alta densidad) y aportan información sustancial en cuanto a la composición genética de microorganismos específicos. Las muestras o aislados clínicos de pacientes se someten a marcado para amplificación con DNA, a lo que seguirán hibridación, lavado y detección de DNA marcado y unido a sondas específicas. Las micromatrices se utilizan para detectar microorganismos directamente de muestras de pacientes o hemocultivos que han tenido positividad, por medio de segmentos conservados como las sondas de DNA ribosómico 16S. También permiten conocer el perfil genético de microorganismos aislados que aportan información del genotipo, factores de virulencia o marcadores de resistencia que se producen en el microorganismo.

I. Secuenciación analítica de cribado ultrarrápido

La técnica mencionada (también conocida como secuenciación de la siguiente generación o "profunda") comprende la secuenciación simultánea de un gran número de moléculas de DNA (conocidas en conjunto como genoteca). La fuente de tal conjunto pudiera ser un microorganismo aislado o la muestra directa de un enfermo. Se cuenta con diferentes plataformas instrumentales que generan miles o millones de lecturas de secuencia por cada muestra. Como paso siguiente se usan algoritmos bioinformáticos para clasificar, ensamblar y comparar las secuencias de bases de datos de microorganismos conocidos. La secuenciación analítica por cribado ultrarrápido se utiliza para ensamblar genomas completos de microorganismos, definir el microbioma, detectar agentes infecciosos o buscar variantes de secuencias de bajo nivel conocidas como cuasiespecies. La comparación de bases de datos se utiliza para clasificar el subtipo de microorganismo o conocer la presencia de marcadores de resistencia a fármacos o de virulencia.

Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS, *mass spectrometry*) es una técnica utilizada para analizar proteínas de DNA y ha revolucionado los métodos para identificar microorganismos en los laboratorios clínicos. La MS utiliza recursos, como la radiación ionizante, para disgregar material que forma partículas cargadas, las cuales se identifican de diversas formas con base en su masa o la razón masa-carga. Las aplicaciones en microbiología han sido consecuencia de progresos de la tecnología, como la espectroscopia de masas de tiempo de vuelo con ionización-desorción de matriz asistida con láser (MALDI-TOF MS, *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectroscopy*). Se describen de forma somera algunos métodos de este tipo.

La PCR con MassTag incorpora un marbete de masa conocida (a nivel comercial, se dispone de una biblioteca de 64 marbetes de masa) en un producto de PCR. Los marbetes más utilizados en las reacciones de PCR múltiples son liberados por radiación ultravioleta (UV) y analizados por MS. El tamaño del marbete es el factor que determina la identidad de las moléculas efectoras deseadas.

La espectrometría de masas con ionización de electronebulización de PCR (PCR-ESI-MC, *PCR electrospray ionization mass spectrometry*) utiliza un principio singular. En resumen, en lo que se refiere a microorganismos particulares, se diseña un conjunto de cebadores de PCR que amplifica regiones fundamentales del genoma microbiano. Las reacciones de PCR múltiple se realizan en una lámina de microtítulos para analizar cada muestra y algunas de las depresiones contienen dos o más pares de cebadores. Después de PCR, se coloca la lámina de microtítulos en un instrumento completamente automatizado y se hace un análisis de ESI-MS. El espectrómetro de masas es un instrumento analítico que pesa de modo eficaz los amplicones, o una muestra de ellos, con suficiente precisión de masa, al grado que es posible deducir la composición de A, G, C y T de cada amplicón en la reacción de PCR. El paso siguiente es el análisis de la composición determinada y para ello se utiliza una base de datos de software patentado.

Las dos plataformas mencionadas permiten la detección directa del ácido nucleico de microorganismos directamente de nuestras clínicas, sin necesidad de cultivo previo, porque utilizan una reacción amplificada de PCR. Otra aplicación es el uso de MALDI-TOF para identificar bacterias y levaduras aisladas y

recuperadas en cultivos clínicos. Las plataformas se enfocan en proteínas ribosómicas muy abundantes de bacterias y levaduras. Dichas cuantificaciones comprenden la elaboración de una extensión fina, a partir de una colonia o un cultivo en caldo, en una laminilla metálica del microorganismo por identificar y aplicarle una matriz ácida. La laminilla se coloca en el instrumento en que pulsos de láser se aplican a la mezcla de los patógenos. Se producen fragmentos proteínicos cargados y se aceleran a través de un campo electrostático en un tubo de vacío hasta que establecen contacto con el detector del espectrómetro de masas. Las moléculas de masas y cargas diferentes "vuelan" con velocidad distinta ("tiempo de vuelo"). Se genera un dato característico espectral, por lo regular en los límites de una proporción masa-carga (m/z) de 1 000 a 20 000; la señal espectral se compara con otras en la base de datos registradas de cada instrumento para así seleccionar el género o la especie de microorganismo que le corresponde. Conviene que el lector consulte el trabajo de Emonent *et al*., en busca de mayores detalles.

IMPORTANCIA DE LA FLORA BACTERIANA Y MICÓTICA NORMALES

Se considera que los microorganismos, como *M. tuberculosis, Salmonella typhi* y *Brucella,* son patógenos siempre que se les detecte en los pacientes. Sin embargo, muchas infecciones son causadas por microorganismos que son miembros permanentes o transitorios de la microbiota normal. Por ejemplo, *Escherichia coli* es parte de la microbiota normal del tubo digestivo y también es el agente patógeno más frecuente que causa las infecciones de las vías urinarias. De forma semejante, la mayor parte de las infecciones bacterianas mixtas con anaerobios se originan de microorganismos que pertenecen a la microbiota normal.

El número relativo de microorganismos específicos detectados en un cultivo adquiere importancia cuando miembros de la microbiota normal son los que originan la infección. Cuando se identifican innumerables bacilos gramnegativos de especies, como *Klebsiella pneumoniae,* mezclados con unas cuantas bacterias normales de la nasofaringe en el cultivo de esputo, existe una fuerte sospecha de que los bacilos gramnegativos causen la neumonía porque de modo normal no hay gran cantidad de ellos en el esputo ni en la microbiota nasofaríngea; es necesario identificar los microorganismos e informar al médico. A diferencia de esto, los abscesos abdominales suelen poseer una distribución normal de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, que constituyen la microbiota del tubo digestivo. En esos casos, no se justifica identificar a todos los agentes presentes y, en vez de ello, es mejor notificar que existe "microbiota normal del tubo digestivo".

Las levaduras en cantidades pequeñas suelen ser parte de la microbiota normal. Sin embargo, otros hongos no constituyen una fracción habitual de ese conglomerado y, por ello, habrá que identificarlos y señalarlos al médico. Los virus por lo regular no son parte de la microbiota normal tal como se detecta en los laboratorios de microbiología diagnóstica, pero se les puede identificar en personas por lo demás sanas, tal vez como una forma de infecciones asintomáticas. Se detectan virus latentes como el de herpes simple o CMV, o virus vivos de vacunas como el poliovirus en los casos asintomáticos. En algunas zonas del mundo por medio del estudio de muestras de heces se obtienen pruebas de parasitosis sin que existan síntomas. Por lo tanto, el cuadro clínico inicial con que surgen enfermedades infecciosas, junto con el número relativo de microorganismos potencialmente patógenos, constituyen los elementos importantes para corroborar el diagnóstico preciso.

Los miembros de la microbiota normal que se presentan más a menudo en muestras del paciente y que pueden calificarse de "microbiota normal" se exponen en el capítulo 10.

MEDIOS AUXILIARES DE LABORATORIO EN LA SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

El antibiótico que se utiliza para iniciar el tratamiento de una infección se elige con base en la impresión clínica después de que el médico está convencido de que hay una infección y ha planteado de forma tentativa un diagnóstico etiológico con sustentación clínica. Con base en esta "suposición orientada", es posible elegir un fármaco conveniente (capítulo 28). Antes de la administración del medicamento, se obtienen muestras para detectar el agente causal en el laboratorio. Los resultados de dichos estudios permitirán disminuir el número de antibióticos hasta llegar al tratamiento personalizado (a diferencia de la protección contra grampositivos y gramnegativos amplia contra las infecciones o septicemia). La identificación de algunos microorganismos que siempre son farmacosusceptibles elimina la necesidad de nuevos estudios y permite seleccionar medicamentos óptimos y eficaces con base en el perfil conocido de susceptibilidad del microorganismo. Cuando varía el perfil de resistencia de los gérmenes, los estudios para medir la susceptibilidad de microorganismos aislados a fármacos serán el elemento que oriente el fármaco de elección (capítulo 28). **Los métodos de susceptibilidad por difusión en disco** miden la capacidad de la bacteria de proliferar en la superficie de una placa de agar en presencia de discos de papel que contienen el antibiótico. El fármaco se difunde al agar que lo rodea e inhibe la proliferación bacteriana en una zona circular que rodea al disco. Se mide el diámetro de esta zona de inhibición de la proliferación y muestra correlación con la susceptibilidad de la cepa en estudio. Los fármacos de elección por incluir en una batería de pruebas sistemáticas para valorar la susceptibilidad, debe basarse en los perfiles de esta última en cepas aisladas en el laboratorio, el tipo de infección (de origen extrahospitalario o nosocomial), el origen de la infección y el análisis de rentabilidad en relación con la población de pacientes. En Estados Unidos, el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)(Wayne, PA) hace recomendaciones respecto a los agentes por investigar con base en el microorganismo recuperado y el tipo de muestra, así como criterios de interpretación (cepa aislada susceptible, de susceptibilidad intermedia o resistente) con base en la anchura de la zona medida.

El tamaño de las zonas de inhibición de la proliferación varía con las características farmacológicas de diferentes productos. De este modo, la magnitud de la zona de un producto no se puede comparar con la de otro que actúa en el mismo microorganismo. Sin embargo, en lo que se refiere a cualquier fármaco, el tamaño de la zona podrá compararse con una norma, a condición de que haya un control cuidadoso de los medios de

apter 47_Carroll_4R.indd 754 15/04/16

laboratorio, tamaño del inóculo y otros factores; tales condiciones permiten definir para cada fármaco un diámetro de la zona de inhibición que permite diferenciar las cepas susceptibles de las que son resistentes o que tienen susceptibilidad intermedia.

El método de discos mide la capacidad de los fármacos de inhibir la proliferación de bacterias *in vitro*. Sus resultados guardan correlación razonable con la respuesta terapéutica en procesos patológicos *in vivo* cuando las defensas corporales pueden eliminar microorganismos infecciosos, pero la relación no es tan satisfactoria, en la respuesta de pacientes inmunodeficientes. La selección del antibiótico apropiado depende de factores clínicos y también bacterianos, como el uso de bactericidas, y no bacteriostáticos contra la endocarditis, o productos que penetrarán la barrera hematoencefálica contra infecciones del sistema nervioso central (SNC) (capítulo 28). Las pruebas de **concentración inhibidora mínima (MIC, *minimum inhibitory concentration*)** miden la habilidad de un microorganismo para proliferar en caldo de cultivo en presencia de diversas diluciones de antibióticos. En circunstancias definidas, éste mide con mayor exactitud la concentración necesaria de un antibiótico para inhibir la proliferación de un inóculo estandarizado. Se usa un método de microdilución semiautomatizado en el cual se disuelven cantidades definidas del fármaco en un volumen pequeño y medido de caldo y se inocula con un número estandarizado de microorganismos. Se considera como punto final o MIC la última vasija de caldo (la concentración mínima del fármaco) que permanece clara, es decir, sin proliferación microbiana. Con este método, se obtiene un mejor cálculo de la cantidad probable de fármaco necesaria para inhibir la proliferación *in vivo* y de este modo es útil para ajustar el régimen posológico necesario para el paciente. Las guías publicadas por el CLSI aportan criterios de interpretación; éstas definen las cepas como resistentes, de resistencia intermedia o susceptibles a algunos fármacos, con base en la MIC.

La MIC sólo indica que la proliferación bacteriana es inhibida con esa concentración en fármacos; sin embargo, aún puede haber bacterias viables que se recuperarán una vez que se descontinúe el uso del fármaco. Los efectos bactericidas se calculan al hacer un subcultivo en material del caldo claro, a partir de las cifras de MIC, y de ahí a medios sólidos sin antibióticos. El resultado, es decir, la disminución de 99.9% de unidades formadoras de colonias por debajo de la cifra testigo, recibe el nombre de **concentración bactericida mínima (MBC; *minimal bactericidal concentration*)**.

Como los tratamientos empíricos se administran antes de contar con los antibiogramas, el CLSI recomienda que cada año el laboratorio publique un antibiograma que contenga los resultados de los estudios de susceptibilidad en conjunto, correspondiente a combinaciones particulares de microorganismos y fármacos. Por ejemplo, tal vez sea importante tener conocimientos del antibiótico lactámico β más activo que actúa contra *Pseudomonas aeruginosa* en sujetos en la unidad de cuidados intensivos en un hospital particular. Lo anterior permite seleccionar el mejor tratamiento con base en la sospecha del médico respecto al microorganismo infectante y las cepas que circulan en la localidad.

La selección de un bactericida o una combinación de fármacos para cada paciente puede orientarse con los datos de técnicas especializadas de laboratorio, pues miden la rapidez de muerte (técnica de tiempo de destrucción o muerte) o la proporción de la población microbiana destruida en un tiempo fijo (métodos bactericidas en suero). Las pruebas de sinergia miden la capacidad de los fármacos para intensificar la destrucción bacteriana cuando están presentes en combinaciones; los productos que presentan sinergia pueden ser más eficaces si se combinan con otro medicamento para tratar infecciones. En la actualidad pocos laboratorios realizan este tipo de pruebas especializadas de susceptibilidad.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN SEGÚN EL SITIO ANATÓMICO

Heridas, tejidos, huesos, abscesos y líquidos corporales

Los datos del estudio microscópico del frotis y los cultivos de muestras obtenidas de heridas o abscesos suelen indicar de forma inmediata e importante la naturaleza del microorganismo infectante y es un medio útil para la selección de antibióticos. Las muestras enviadas para biopsias histológicas diagnósticas deben ser objeto de análisis bacteriológicos y también histológicos. Las muestras para el estudio bacteriológico no deben entrar en contacto con fijadores ni desinfectantes y se fragmentan finamente y cultivan por medio de métodos diversos.

El pus en los abscesos cerrados, no drenados, de tejidos blandos a menudo contiene sólo un microorganismo como agente infectante; en aquellos, muy a menudo hay estafilococos, estreptococos o bacilos entéricos gramnegativos. La misma situación priva en la osteomielitis aguda, en que es posible cultivar los microorganismos provenientes de la sangre antes de que la infección se torne crónica. En abscesos abdominales y los que surgen junto a superficies mucosas y en heridas abiertas, con frecuencia se identifican microorganismos múltiples. Cuando las lesiones supuradas profundas, como la osteomielitis crónica, drenan al exterior a través de una fístula o un fondo de saco, es importante distinguir la microbiota de la superficie a través de la cual la lesión vierte pus u otro material, respecto de la microbiota propia de la lesión profunda. Para evitar ese problema, hay que aspirar muestras de la infección primaria, a través de tejido no infectado.

El análisis bacteriológico del pus de lesiones cerradas o profundas debe incluir cultivo para detectar anaerobios. Las bacterias de ese tipo (*Bacteroides, Fusobacteria*, etc.) a veces constituyen los agentes causales esenciales y a menudo hay mezclas de anaerobios.

Los métodos utilizados en los cultivos deben ser adecuados para la identificación semicuantitativa de bacterias comunes y también para la identificación de microorganismos especializados que incluyen micobacterias y hongos. La piel y las mucosas erosionadas suelen ser los sitios de asiento de infecciones por levaduras y hongos. A veces, con métodos microscópicos en frotis o preparaciones de material de raspado de zonas sospechosas, se detectan *Candida*, *Aspergillus* y otras levaduras u hongos que pueden proliferar en los cultivos. El tratamiento con hidróxido de potasio y calcoflúor blanco mejora en gran medida la observación de levaduras y hongos en la muestra.

El material de exudado que se ha reunido en los espacios pleural, peritoneal, pericárdico o sinovial debe obtenerse mediante aspiración con una técnica aséptica. Si el material es evidentemente purulento, se llevan a cabo directamente el frotis y los cultivos. Cuando el líquido es transparente, éste se

centrifuga y el sedimento se usa en frotis teñidos y en cultivo. El método de cultivo debe ser idóneo para la proliferación de microorganismos cuya presencia se sospecha con bases clínicas, por ejemplo micobacterias, anaerobios y también las bacterias piógenas de aparición frecuente. Algunas muestras de líquido se coagulan y a veces se necesita cultivar una muestra con anticoagulantes. Los siguientes resultados bioquímicos y hematológicos sugieren infección: densidad > 1.018; contenido proteínico >3 g/100 ml (que a menudo origina coagulación) y recuento celular > 500 a 1 000 células/μl. En las infecciones piógenas agudas no tratadas, predominan los leucocitos polimorfonucleares (PMN, *polymorphonuclear leukocytes*); lo mismo ocurre con los linfocitos o los monocitos en caso de infección crónica. El trasudado que surge por la proliferación neoplásica a simple vista puede semejar el exudado infeccioso, al tener un aspecto sanguinolento o purulento y coagularse en reposo. El análisis citológico del frotis o las secciones de células centrifugadas puede corroborar la naturaleza neoplásica del trastorno.

Sangre

La bacteriemia casi siempre denota alguna enfermedad que puede ser letal, razón por la cual es esencial su detección oportuna. El hemocultivo constituye la técnica más importante para encontrar infección sistémica por bacterias; aporta información útil para tratar a sujetos febriles con cuadros agudos, con síntomas y signos de localización o sin ellos y su práctica es esencial para todo sujeto en quien se sospecha endocarditis infecciosa, incluso si el cuadro al parecer no es agudo ni muy grave. Además de su importancia diagnóstica, la identificación del agente infeccioso en la sangre constituye un elemento auxiliar muy útil para seleccionar los antibióticos para el tratamiento. Por tal razón, se lleva a cabo todo intento de aislar los microorganismos causales de la bacteriemia.

En personas sanas, las muestras de sangre obtenidas de manera cuidadosa son estériles. A pesar de que los microorganismos de la microbiota normal de vías respiratorias y el tubo digestivo a veces penetran en la sangre, aquellos se eliminan casi de inmediato gracias al sistema reticuloendotelial. Esta situación rara vez altera la interpretación de los resultados del hemocultivo. Si con esta técnica se identifican microorganismos, el hecho asume enorme importancia clínica, a condición de que se excluya la contaminación en el laboratorio. La contaminación de los cultivos de sangre con la microbiota cutánea normal muy a menudo depende de errores en la técnica de obtención de dicho líquido. Por consiguiente, es esencial efectuar un hemocultivo con la técnica más adecuada.

Las normas siguientes aplicadas de modo estricto generan resultados fiables:

1. Usar una técnica rigurosamente aséptica. Usar guantes, no es necesario que sean estériles.
2. Aplicar el torniquete y por el tacto identificar una vena fija. Liberar el torniquete mientras se trata la piel de modo aséptico.
3. Preparar la piel para punción venosa al limpiarla de manera vigorosa con alcohol isopropílico al 70 a 95%. Después de utilizar tintura de yodo al 2% o clorhexidina al 2%, el técnico debe comenzar en el sitio de punción venosa y limpiar la piel en círculos concéntricos de diámetro cada vez mayores. Se permite que los materiales de la preparación antiséptica se sequen durante 30 s, como mínimo. Una vez preparada la piel, no debe tocarse.
4. Aplicar de nuevo el torniquete, realizar la punción venosa (adultos) y extraer unos 20 ml de sangre.
5. Colocar la sangre en recipientes de cultivo "etiquetados" para aerobios y anaerobios.
6. Etiquetar con exactitud y transportar inmediatamente las muestras al laboratorio.

El que los cultivos de sangre generen resultados positivos depende de algunos factores: volumen de sangre cultivada, dilución de la sangre en el medio de cultivo, empleo de medios de cultivos para aerobios y anaerobios y duración de la incubación. En los adultos, por lo común se obtienen 20 ml por cultivo y la mitad de ese volumen se coloca en un recipiente para cultivo aerobio de sangre y la otra mitad para anaerobios; un par de recipientes deben contener un solo cultivo de sangre. Los fabricantes comerciales de sistemas para hemocultivo optimizan la composición con el volumen del caldo, así como los agentes para neutralizar antibióticos que se usen (carbón vegetal activado o microesferas de resina). Los sistemas de cultivo automatizados usan métodos diversos para detectar cultivos positivos; tales métodos hacen posible la revisión frecuente de los cultivos (incluso en el transcurso de unos minutos) y la detección más temprana de los positivos. Los medios en los sistemas de cultivo automatizado de sangre están tan enriquecidos y la detección es tan sensible que no es necesario procesar los cultivos de sangre por más de cinco días. En general, los subcultivos están indicados sólo si el aparato indica que un cultivo es positivo. Los sistemas de cultivo manuales de sangre son obsoletos y quizá se utilicen sólo en laboratorios en países en desarrollo que no cuentan con los recursos para adquirir sistemas automatizados de hemocultivo. En los sistemas manuales, se revisan los recipientes del cultivo de sangre dos o tres veces al día durante los primeros dos días y a diario luego de esa fecha durante una semana. En el método manual, a veces se necesitan los subcultivos ciegos de todos los recipientes del hemocultivo en el segundo y séptimo días.

El número de muestras de sangre que es necesario extraer para los cultivos y el lapso en el cual se lleva a cabo la técnica dependen en parte de la gravedad de la enfermedad. En infecciones hiperagudas, como la septicemia por gramnegativos con estado de choque o por estafilococos, conviene practicar como mínimo dos cultivos de sangre obtenida de dos sitios anatómicos distintos, de preferencia a través de punción venosa periférica. Publicaciones recientes sugieren que a veces se necesitan tres a cuatro hemocultivos. En otras infecciones bacteriémicas, como la endocartidis subaguda, se recolectan tres muestras de sangre en el transcurso de 24 h. El total de tres hemocultivos permite identificar la bacteria infectante en más de 95% de los pacientes bacteriémicos. Si los tres cultivos iniciales arrojan resultados negativos y se sospecha algún absceso oculto, fiebre de origen no identificado u otra infección no esclarecida, se cultivan más muestras de sangre, cuando sea posible, antes de emprender el tratamiento antimicrobiano.

Es necesario valorar la importancia de un hemocultivo positivo. Los criterios siguientes quizá sean útiles para diferenciar los "cultivos positivos verdaderos" de las muestras contaminadas:

1. La proliferación del mismo microorganismo en cultivos repetidos de material obtenido en fechas diferentes de sitios anatómicos separados sugiere fuertemente bacteriemia real.
2. La proliferación de microorganismos diferentes en frascos de cultivo distintos sugiere contaminación, pero a veces es consecuencia de problemas clínicos como la infección de la herida o el estallamiento de intestinos.
3. La proliferación de la microbiota cutánea normal, como estafilococos coagulasa negativos, difteroides (corinebacterias y propionibacterias) o cocos anaerobios grampositivos sólo en uno de grandes cultivos, sugiere contaminación. La proliferación de los microorganismos mencionados en varios cultivos o de muestras obtenidas de un enfermo de alto riesgo como el receptor inmunodeficiente de médula ósea en trasplante, incrementa la posibilidad de bacteriemia clínicamente trascendente.
4. Es posible que microorganismos, como los estreptococos viridans o los enterococos, proliferen en hemocultivos obtenidos de sujetos en quienes se sospecha endocarditis, y bacilos gramnegativos, como *E. coli,* en cultivos de sangre de individuos con septicemia clínica por gramnegativos. Por tal razón, cuando se identifican los microorganismos "esperados", lo más probable es que tengan importancia etiológica.

A continuación, se indican las especies bacterianas que se identifican más a menudo en cultivos positivos de sangre: estafilococos, que incluyen *S. aureus;* estreptococos viridans; enterococos, que incluyen *Enterococcus faecalis;* bacterias entéricas gramnegativas, que abarcan *E. coli* y *K. pneumoniae*; *P. aeruginosa*; neumococos y *H. influenzae*. En los hemocultivos, proliferan *Candida,* otras levaduras y algunos hongos dimórficos, como *H. capsulatum,* pero rara vez, si es que así ocurre, se identifican muchos hongos en sangre. A veces se observan CMV y virus del herpes simple en hemocultivos, pero no se detectan muchos virus, rickettsias y clamidias por cultivo en sangre. Los protozoos parásitos y los helmintos no se multiplican en hemocultivos.

En casi todos los tipos de bacteriemia, no es de utilidad el análisis de los frotis directos de sangre. La exploración diligente de la capa de leucocitos de sangre anticoagulada, en frotis teñidos con técnica de Gram, a veces permite detectar bacterias en sujetos con infecciones por S. *aureus*, septicemia por clostridios o fiebre recurrente. En algunas infecciones por microorganismos (p. ej., carbunco, peste, fiebre recurrente, rickettsiosis, leptospirosis, espirilosis y psitacosis), la inoculación de sangre en animales puede generar resultados positivos con mayor facilidad, que el mismo cultivo. En la práctica, nunca se realiza en el laboratorio clínico y se puede obtener el diagnóstico por otros medios como los métodos serológicos o de amplificación de ácido nucleico.

Orina

El análisis bacteriológico de la orina se realiza cuando los signos o los síntomas clínicos orientan hacia la presencia de una infección de vías urinarias, insuficiencia renal o hipertensión. Se lleva a cabo siempre en quienes se sospeche infección sistémica o fiebre de origen indeterminado. Es importante estudiar a las mujeres en el primer trimestre del embarazo en busca de bacteriuria asintomática.

La orina que secretan los riñones es estéril, salvo que tales órganos estén infectados. Por lo regular, la orina vesical no contaminada también es estéril; sin embargo, la uretra contiene microbiota normal, de modo que la orina expulsada de forma habitual contiene un número pequeño de bacterias. Es necesario diferenciar los microorganismos contaminantes de otros que tengan importancia en la causa de la enfermedad, razón por la cual sólo los estudios *cuantitativos* de orina pueden generar resultados importantes.

Las fases siguientes son esenciales en el análisis apropiado de la orina.

A. Obtención correcta de la muestra

La obtención apropiada de la muestra constituye la medida más importante dentro de un cultivo de orina y la más difícil. Las muestras satisfactorias obtenidas de mujeres suelen generar problemas.

1. Se debe tener a la mano un recipiente con tapa de rosca estéril para colocar la muestra y dos a tres torundas de gasa humedecidas con solución salina no bacteriostática (no se recomienda utilizar jabones antibacterianos para la limpieza).
2. Con dos dedos, se separarán con delicadeza los labios de la vulva y se conservan a los lados durante la fase de limpieza y recolección de la muestra. Hay que secar la uretra una vez desde el frente hacia atrás con cada una de las gasas con solución salina.
3. Al iniciar la expulsión de orina, con un recipiente de recolección, se recolecta la muestra a mitad del chorro. Es importante etiquetar con exactitud dicho recipiente.

El mismo método se utiliza para obtener las de varones; en aquellos sin circuncisión, se mantiene retraído el prepucio.

La colocación de una sonda conlleva el peligro de introducir microorganismos en la vejiga, pero a veces esta situación es inevitable. Durante la cistoscopia, el urólogo puede obtener con un catéter muestras separadas del riñón derecho y el izquierdo y los uréteres correspondientes. Cuando está colocada una sonda permanente y un sistema de recolección cerrado, se obtiene la orina por aspiración estéril del catéter con aguja y jeringa y no del depósito de recolección. Para resolver problemas de diagnóstico, la orina se puede aspirar de forma aséptica directamente de la vejiga llena por medio de punción suprapúbica de la pared abdominal. Por lo general, este procedimiento se realiza en lactantes.

En lo que se refiere a muchos estudios, bastan 0.5 ml de orina uretral o 5 ml de orina expulsada. Muchos tipos de microorganismos se multiplican en muy corto plazo en la orina si se la deja a temperatura ambiente o corporal; por esta razón, es necesario llevar con rapidez al laboratorio las muestras de orina o refrigerarlas por un lapso no mayor de una noche. Otra posibilidad es utilizar tubos de transporte que contengan ácido bórico, cuando es imposible refrigerar las muestras.

B. Análisis microscópico

El estudio microscópico sencillo de la orina enseña mucho al médico. Una gota de orina recién obtenida no centrifugada, que se deposita en una laminilla, se cubre con el cubreobjetos y se analiza con la intensidad restringida de luz con el objetivo seco de alta amplificación en un microscopio corriente, puede

mostrar leucocitos, células epiteliales y bacterias en caso de que el número de ellos rebase los 10^5/ml. La detección de dicho número de microorganismos por mililitro en una muestra de orina reunida y estudiada de manera apropiada es una prueba de peso de que existe una infección activa de vías urinarias. La presencia de bacilos gramnegativos en una muestra de orina no centrifugada, obtenida a mitad de chorro, en un frotis teñido con el método de Gram, conlleva el diagnóstico de infección de vías urinarias.

Las centrifugación breve de la orina permite sedimentar con facilidad células de pus que pueden portar bacterias y, de este modo, facilitar el diagnóstico microscópico de infección. La presencia de otros elementos formes en el sedimento o detectar proteinuria es poco útil para la identificación específica de una infección activa de vías urinarias. Las células de pus tal vez se produzcan sin bacterias y, por el contrario, puede haber bacteriuria sin piuria. La presencia de innumerables células del epitelio pavimentoso, lactobacilos o microbiota mixta en los cultivos sugiere que la recolección de orina fue inapropiada.

Algunas tiras colorimétricas para orina contienen esterasa de leucocitos y nitrito, las cuales miden los poliformonucleares y las bacterias, respectivamente, en la orina. Las reacciones positivas sugieren fuertemente infecciones de vías urinarias, en tanto que las negativas indican una posibilidad mínima de tales infecciones, excepto en neonatos y pacientes inmunodeficientes.

C. Cultivos

Para generar resultados importantes, los cultivos de orina deben realizarse de manera cuantitativa. La orina reunida de manera adecuada se cultiva en cantidades medidas de medios sólidos y se cuentan las colonias que surgen después de la incubación, con el propósito de saber el número de bacterias por mililitro. El método ordinario es inocular 0.001 a 0.05 ml de orina sin diluir en cajas de agar con sangre y otros medios sólidos, para el cultivo cuantitativo. Los medios se incuban durante toda la noche a 37 °C; después se compara el número de microorganismos que proliferaron (densidad de crecimiento) mediante fotografías con diferentes ejemplos del mismo parámetro, en el caso de bacterias similares; así se obtienen datos semicuantitativos.

En la pielonefritis activa, el número de bacterias en la orina reunida por sondas ureterales es relativamente bajo. Las bacterias, en tanto se acumulan en la vejiga, se multiplican de modo rápido y pronto su número excede de 10^5/ml, cifra mucho mayor de la que puede obtenerse como consecuencia de contaminación por la microbiota de la uretra o la piel o del aire. Por esa razón, suele aceptarse que si por cultivo se identifican más de 10^5 colonias/ml en una muestra de orina reunida y cultivada de manera apropiada, ello constituye una prueba de peso de que existe infección activa de vías urinarias. La presencia de más de 10^5 bacterias del mismo tipo por mililitro en dos muestras consecutivas corrobora el diagnóstico de infección activa del aparato genitourinario, con una certidumbre de 95%. Si en el cultivo se encuentran menos bacterias, conviene repetir el análisis de la orina para corroborar la presencia de infección.

La identificación de 10^4 bacterias por mililitro, que incluye diferentes tipos de ellas, sugiere que los microorganismos provienen de la microbiota normal y son contaminantes, casi siempre de una recolección inadecuada de la muestra. La presencia de 10^4/ml de un solo tipo de bacilos gramnegativos entéricos sugiere fuertemente infección de vías urinarias, en particular en varones. En ocasiones, mujeres jóvenes con disuria aguda e infección de vías urinarias tienen más de 10^2 a 10^3/ml. Si en los cultivos no se detectan microbios, pero persisten los signos clínicos de infección de dichas vías, hay que pensar en otras entidades patológicas, como "síndrome uretral", obstrucción ureteral, tuberculosis vesical, infección gonocócica u otras enfermedades.

Líquido cefalorraquídeo

La meningitis ocupa un lugar prominente entre las urgencias médicas y, en ese caso, es esencial el diagnóstico inmediato, rápido y preciso. El diagnóstico de meningitis depende de conservar una fuerte sospecha de su presencia o tener muestras adecuadas y estudiarlas en muy corto plazo. El peligro de muerte o de lesiones irreversibles es grande si no se emprende de inmediato el tratamiento y, por ello, casi nunca se cuenta con una nueva oportunidad de obtener muestras previas al régimen terapéutico, situación esencial para el diagnóstico etiológico específico y el tratamiento óptimo.

El aspecto diagnóstico más urgente es hacer la diferenciación entre la meningitis bacteriana purulenta aguda, la meningitis "aséptica" y la granulomatosa. La decisión inmediata por lo común se basa en el recuento celular, la medición de la concentración de glucosa y el contenido proteínico del LCR y los resultados de la búsqueda microscópica de microorganismos (véase caso 1, capítulo 48). La impresión inicial se modifica con los resultados del cultivo, los estudios serológicos, las pruebas de amplificación de ácido nucleico y otros métodos de laboratorio. Al valorar las concentraciones de glucosa en LCR, hay que considerar de manera simultánea la glucemia. En algunas neoplasias del sistema nervioso central, las concentraciones de glucosa en dicho líquido son bajas.

A. Muestras

Tan pronto el médico sospecha la posibilidad de infección del SNC, debe tomar muestras de sangre para cultivo y también de LCR. Para obtener este último, lleva a cabo una punción lumbar con técnica aséptica estricta y, por todos los medios, ha de evitar la compresión del bulbo raquídeo o la médula espinal por la extracción rápida del líquido cuando hay notable hipertensión intracraneal. El LCR casi siempre se obtiene en tres o cuatro fracciones de 2 a 5 ml cada una, en tubos estériles. Ello permite la realización más cómoda y fiable de pruebas para obtener las diferentes cifras necesarias con objeto de planificar las medidas asistenciales y terapéuticas.

B. Estudios microscópicos

El laboratorista se encarga de hacer los frotis del sedimento del LCR centrifugado. Para preparar las laminillas que han de teñirse, es recomendable el uso de una centrífuga digital que concentre con mayor eficacia el material celular y las bacterias, en comparación con la centrifugación corriente. Los frotis se tiñen con el método de Gram. Al estudiar estos frotis con el objetivo de inmersión en aceite, es posible identificar diplococos gramnegativos intracelulares (meningococos), diplococos grampositivos intracelulares y extracelulares en forma de lanceta (neumococos) o pequeños bacilos gramnegativos (*H. influenzae* o bacilos gramnegativos entéricos).

C. Detección de antígeno

El antígeno de criptococo en el LCR se puede detectar con las pruebas de aglutinación de látex o con EIA. Se han creado estudios de detección de antígenos bacterianos, pero no se les realiza más, porque no son más sensibles que las tinciones corrientes de Gram.

D. Cultivo

Los métodos de cultivo deben facilitar la proliferación de microorganismos que suelen hallarse en la meningitis. En el agar con sangre de carnero y el agar chocolate, se multiplican casi todas las bacterias y los hongos que causan meningitis. Para el diagnóstico de meningitis tuberculosa, se necesitan cultivos en medios especiales (cuadro 47-2 y capítulo 23). Los virus que causan meningitis aséptica o meningoencefalitis como los de herpes simple, el enterovirus, el virus JC y de parotiditis, se detectan por medio de amplificación del ácido nucleico.

E. Análisis de líquido cefalorraquídeo de seguimiento

La normalización de la concentración de glucosa y del número de células en el LCR es una prueba satisfactoria de que el tratamiento fue adecuado. La respuesta clínica asume importancia definitiva.

Secreciones de vías respiratorias

Los síntomas o los signos a menudo orientan hacia la afectación de alguna zona particular de las vías respiratorias y, con esa base, el personal elige las muestras. Al interpretar los resultados de las pruebas de laboratorio, es necesario considerar la microbiota normal del área de donde se obtuvo la muestra.

A. Muestras

1. Faringe. Muchas “faringitis” se originan de infecciones por virus. Sólo 5 a 10% de tales casos en adultos y 15 a 20% en niños provienen de infecciones bacterianas. La detección de un exudado amarillento folicular o una membrana grisácea debe despertar en el médico la sospecha de que hay una infección por estreptococo hemolítico β del grupo A de Lancefield o infecciones diftérica, gonocócica, por fusoespiroquetas o *Candida*; los signos en cuestión también pueden presentarse en infecciones, como la mononucleosis, la generada por adenovirus y otras producidas por virus.

Se obtiene material faríngeo de cada área amigdalina y de la retrofaringe, sin tocar la lengua ni la mucosa vestibular. La microbiota normal en tal región incluye abundantes estreptococos viridans, neiserias, difteroides, estafilococos, bacilos gramnegativos pequeños y otros microorganismos. El estudio microscópico del frotis de exudado faríngeo obtenido con un hisopo es poco útil en infecciones por estreptococos, porque en todos los casos, la faringe alberga estreptococos de manera predominante.

Los cultivos del exudado faríngeo obtenido con hisopo generan resultados más fiables si se inoculan en corto plazo después de su obtención. Los medios selectivos para estreptococos pueden utilizarse para cultivar estreptococos del grupo A. Al sembrar el material en medios selectivos para estreptococos o placas de agar con sangre para cultivo, es esencial distribuir un pequeño inóculo de manera uniforme y evitar la proliferación excesiva de microbiota normal; ello se puede lograr con facilidad al tocar el exudado faríngeo del hisopo en una zona pequeña de la placa y utilizar otro hisopo estéril o un asa bacteriológica estéril para llevar a cabo la siembra de esa área. La detección de colonias de estreptococo hemolítico β se facilita al presionar firmemente tramos largos del agar (con objeto de obtener una menor presión de oxígeno) y al incubar la placa dos días a 37 °C.

En los últimos 20 años, se han perfeccionado diversos métodos de detección de antígenos, sondas y estudios de amplificación de ácido nucleico para mejorar la detección de *Streptococcus pyogenes* del exudado faríngeo, obtenido con un hisopo, en sujetos con faringitis estreptocócica aguda. Es importante que el usuario sepa que tales métodos detectan o descartan sólo *S. pyogenes* y, de este modo, es imposible depender de sus resultados para el diagnóstico de faringitis bacteriana causada por otros patógenos. Las recomendaciones actuales indican la realización de cultivo en algunos pacientes en quienes se sospecha infecciones faríngeas por estreptococos del grupo A, particularmente en niños, en quienes son negativos los resultados de pruebas rápidas, salvo que estas últimas demuestren la misma sensibilidad que los métodos de cultivo.

2. Nasofaringe. El material nasofaríngeo obtenido con hisopos (exudado faríngeo) es el más utilizado para el diagnóstico de infecciones por virus en vías respiratorias. La tos ferina se diagnostica al cultivar el material de lavado nasofaríngeo o nasal en busca de *B. pertussis* o por amplificación mediante PCR del DNA de ese microorganismo en la muestra.

3. Oído medio. Rara vez se obtienen muestras del oído medio porque habría que puncionar la membrana del tímpano. En la otitis media aguda, 30 a 50% de los líquidos aspirados son estériles desde el punto de vista bacteriológico. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia son neumococos, *H. influenzae, Moraxella catarrhalis* y estreptococos hemolíticos.

4. Vías respiratorias inferiores. Las secreciones y los exudados bronquiales y pulmonares suelen estudiarse al analizar el esputo. El aspecto más desorientador de tal análisis es la casi inevitable contaminación con saliva y microbiota bucal. Con tal base, la detección de *Candida*, *S. aureus* o incluso *S. pneumoniae* en el esputo de una persona con neumonitis no tiene importancia etiológica, salvo que haya confirmación por los signos clínicos. Las muestras de esputo, para que sean de consideración, deben ser expectoradas y contener material de vías respiratorias inferiores y totalmente diferentes de la saliva. La producción de esputo se puede inducir por inhalación durante varios minutos de un aerosol de solución salina hipertónica. En la neumonía acompañada de derrame pleural, en el líquido de esa zona se pueden identificar con mayor fidelidad los microorganismos causales que tiene el esputo. Si se sospecha tuberculosis, en el material de lavado gástrico (esputo deglutido) se pueden encontrar microorganismos si es imposible obtener material expectorado, por ejemplo, en el niño.

5. Aspiración transtraqueal, broncoscopia, biopsia pulmonar y lavado broncoalveolar. La microbiota en dichas muestras suele reflejar con precisión los fenómenos que ocurren en las vías respiratorias inferiores. A veces se necesita

obtener muestras por broncoscopia para el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis* o infección por *Legionella* u otros microorganismos. Las muestras de lavado broncoalveolar son particularmente útiles en pacientes inmunodeprimidos con neumonía difusa.

B. Estudio microscópico

Los frotis de flemas purulentas o gránulos de esputo, teñidos con los métodos de Gram o para acidorresistentes, pueden indicar la presencia de microorganismos causales y polimorfonucleares. La presencia de muchas células del epitelio pavimentoso sugiere contaminación intensa con saliva y por ninguna razón se utilizarán para el cultivo; un gran número de PMN sugiere exudado purulento por infección.

C. Cultivos

Los medios utilizados para cultivar esputo deben ser adecuados para la proliferación de bacterias (p. ej., neumococos, *Klebsiella*), hongos (p. ej., *C. immitis*), micobacterias (p. ej., *M. tuberculosis*) y otros microorganismos. Las muestras obtenidas por broncoscopia y biopsia de pulmón también se cultivan en otros medios (p. ej., el que se usa para anaerobios, *Legionella* y otros). El operador debe estimar la prevalencia relativa de microorganismos diferentes en la muestra. Sólo detectar un microbio predominante o el aislamiento simultáneo de un microorganismo de esputo en sangre puede definir con nitidez su participación en un proceso neumónico o supurativo. Los laboratorios de hospitales que atienden a gran número de personas que reciben trasplantes poseen algoritmos integrales para muestras obtenidas por broncoscopio, que incluyen diversos métodos diagnósticos, como NAAT y otras técnicas para la detección amplia de agentes patógenos.

Muestras obtenidas del tubo digestivo

Los síntomas agudos que corresponderían al tubo digestivo, en particular náusea, vómito y diarrea, suelen atribuirse a alguna infección. En realidad muchos de los episodios de ese tipo provienen de intolerancia a alimentos o bebidas, presencia de enterotoxinas, consumo de fármacos o enfermedades sistémicas.

Muchos casos de diarrea infecciosa aguda se originan de virus que no pueden identificarse porque no proliferan en cultivos hísticos. Por otra parte, muchos virus que pueden proliferar en cultivos (p. ej., los adenovirus o los enterovirus), se multiplican en el intestino sin causar síntomas del tubo digestivo. De forma similar algunas bacterias patógenas entéricas persisten en el aparato digestivo después de una infección aguda. Por todo lo expuesto, a veces es difícil atribuir importancia a una bacteria o a un virus cultivado de las heces, en especial en enfermedades subagudas o crónicas.

Estas consideraciones no deben desalentar al médico para que intente el aislamiento de microorganismos entéricos, con métodos de laboratorio, pero han de constituir una advertencia de algunas dificultades frecuentes en la interpretación de los resultados.

La zona ileocólica tiene un número notablemente grande de microorganismos bacterianos en su microbiota normal. Los que más prevalecen son los anaerobios (*Bacteroides* y bacilos y cocos grampositivos), los microorganismos entéricos gramnegativos y *E. faecalis*. Cualquier intento de obtener bacterias patógenas de las heces obliga a separar los agentes patógenos de la microbiota normal, casi siempre a través de la utilización de medios selectivos diferenciales y cultivos enriquecidos. Entre las causas importantes de gastroenteritis aguda están virus, toxinas (de estafilococos, clostridios, vibriones y *E. coli* toxígena), shigelas y salmonelas y *Campylobacter*. La importancia relativa de estos grupos de microorganismos muestra enormes diferencias en diversas zonas del mundo.

A. Muestras

Las muestras que se pueden obtener con mayor facilidad son las de heces y las de hisopos rectales. En la bilis obtenida por drenaje duodenal, se puede detectar una infección de los conductos biliares. La presencia de sangre, moco o helmintos se confirma mediante la inspección visual de la muestra. Los leucocitos identificados en suspensiones de heces estudiadas por microscopia o la detección de la lactoferrina, proteína derivada de leucocitos, constituyen medios útiles para diferenciar las diarreas inflamatorias, de las no inflamatorias, pero no permiten distinguir la infección, del cuadro causado por trastornos gastrointestinales no infecciosos. Habrá que utilizar técnicas especiales para identificar protozoos y helmintos parasitarios y sus huevos.

B. Cultivo

Las muestras se suspenden en caldo y se cultivan en medios tanto corrientes como diferenciales (p. ej., los agares de MacConkey o de EMB) que permiten la separación de bacilos gramnegativos que no fermentan la lactosa respecto de otras bacterias entéricas. En caso de sospechar una salmonelosis, se coloca la muestra en un medio enriquecido (como el caldo de selenita F) durante 18 h antes de inocularlo en medios diferenciales (p. ej., el agar entérico de Hektoen o el agar para *Shigella-Salmonella*). Hay mayor posibilidad de aislar *Yersinia enterocolitica* después de almacenar suspensiones fecales durante dos semanas a 4 °C, pero se puede aislar en agar para *Yersinia* o para *Shigella-Salmonella* incubado a 25 °C. Los vibriones se multiplican mejor en el agar sacarosa con sales biliares y citrato de tiosulfato. *Campylobacter* termófilo se aísla en agar de Campy o en medio selectivo de Skirrow incubados a 40 a 42 °C en una atmósfera de 10% de CO_2 con una presión de O_2 muy pequeña. Las colonias bacterianas se identifican con métodos bacteriológicos ordinarios. La aglutinación de bacterias a partir de colonias sospechosas, por antisueros específicos de varios donadores, suele ser el método más rápido para definir la presencia de salmonelas o shigelas en el tubo digestivo.

C. Métodos no basados en cultivos

En la práctica clínica, se cuenta con EIA para detectar patógenos entéricos específicos, de manera directa en muestras de heces o para confirmar su multiplicación en caldo o medios inoculados. También se dispone de EIA que detectan toxinas de Shiga números 1 y 2 en casos en los que se sospecha de colitis causada por *E. coli* enterohemorrágica (llamada también toxina de Shiga que produce STEC o *E. coli*) y que son mejores comparados con los cultivos. Se dispone también de EIA para la detección directa de virus patógenos, como rotavirus, adenovirus 40 y 41 y norovirus; bacterias patógenas, como *Campylobacter jejuni*, así como los protozoos parásitos *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum* y *Entamoeba histolytica*. Los datos útiles de tales valoraciones son variables. Se cuenta con grupos de métodos para

identificar ácido nucleico y con ello la detección directa de patógenos de vías gastrointestinales en las heces. Los requisitos para obtener la muestra y los microorganismos presentes en cada grupo varían de acuerdo al fabricante.

Los parásitos intestinales y sus huevos se identifican por el estudio microscópico de muestras de heces recién obtenidas. Éstas necesitan manejo especial en el laboratorio y a veces se requiere de múltiples muestras para diagnosticar infecciones de nivel bajo (capítulo 46). Los métodos para ácido nucleico se utilizan en la detección de algunos parásitos.

Enfermedades de transmisión sexual

Las causas de secreción de los genitales en casos de uretritis en varones son *N. gonorrhoeae, C. trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. La endocervicitis en mujeres es causada por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Las úlceras en genitales que acompañan a enfermedades en varones y mujeres suelen ser causadas por HSV, con menor frecuencia por *T. pallidum* (sífilis) o por *Haemophilus ducreyi* (chancroide) y con mucho menos frecuencia por linfogranuloma venéreo (serovariedades de *C. trachomatis*); en muy contadas ocasiones por *Klebsiella granulomatis* (granuloma inguinal). Cada una de estas entidades patológicas posee su evolución natural característica, propia y de sus lesiones, pero una puede asemejarse a la otra. En otros apartados del libro, se expone el diagnóstico por medio de laboratorio de casi todas las infecciones en cuestión. Más adelante se describen unos cuantos métodos diagnósticos que se incluyen en el cuadro 47-2.

A. Gonorrea

La presencia de diplococos gramnegativos intracelulares en un frotis teñido de exudado uretral o cervicouterino indica con certeza gonorrea. La sensibilidad de tal estudio se acerca a 90% en el caso de varones y a 50% en mujeres; por tal razón, para ellas se recomienda practicar cultivo o un método de amplificación de ácido nucleico. El material del exudado, el obtenido del recto con hisopo o de la faringe deben inocularse de inmediato en los medios especiales para la proliferación de *N. gonorrhoeae*. Los métodos moleculares para detectar el DNA de dicho diplococo en exudados uretrales, cervicouterinos o en orina son más sensibles que los cultivos.

B. Infecciones por clamidias en genitales

Véase la sección sobre el diagnóstico de clamidiosis, más adelante.

C. Herpes genital

Véase el capítulo 33, así como el apartado de diagnóstico de infecciones por virus más adelante.

D. Sífilis

El estudio en campo oscuro o por inmunofluorescencia del líquido exprimido de la base del chancro puede indicar la presencia de *T. pallidum* típico, no obstante, esta prueba raras veces está disponible. Las pruebas serológicas de sífilis se tornan positivas tres a seis semanas después de la infección. La prueba positiva de floculación (p. ej., el *Venereal Disease Research Laboratory* [VDRL] o la reagina plasmática rápida [RPR, *rapid plasma reagin*]) necesita confirmación. La prueba positiva de anticuerpos inmunofluorescentes contra treponema (p. ej., adsorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes [FTA-ABS, *fluorescent treponemal antibody-absortion*], aglutinación de partículas de *T. pallidum* [TP-PA, *Treponema pallidum particle agglutination*] o las nuevas pruebas de EIA para *Treponema* y quimioluminiscencia; capítulo 24) corrobora la infección sifilítica.

E. Chancroide

En los frotis del material supurado de la lesión casi siempre se identifica una microbiota bacteriana mixta. El material de lesiones obtenido con hisopos debe cultivarse a 33 °C en dos o tres medios que sean selectivos para *Haemophilus ducreyi*. Los métodos serológicos son inútiles. Los cultivos sólo tienen una sensibilidad cercana a 50%; por tal razón el diagnóstico y el tratamiento suelen hacerse sobre bases científicas, de acuerdo con el cuadro típico inicial. Las técnicas moleculares se usan en algunos laboratorios de investigación o especializados.

F. Granuloma inguinal

Klebsiella granulomatis (denominada en el pasado *Calymmatobacterium*), el agente causal de la lesión proliferativa, granulomatosa y dura, puede proliferar en medios bacteriológicos complejos, pero tal confirmación rara vez se intenta y es muy difícil obtener buenos resultados. La demostración histológica de los "cuerpos de Donovan" intracelulares en material de biopsia suele ser un elemento que refuerza la impresión clínica. Los métodos serológicos son ineficaces. En algunos laboratorios de investigación o especializados, se utilizan técnicas moleculares.

G. Vaginosis/vaginitis

La vaginosis bacteriana posiblemente causada por *G. vaginalis o Mobiluncus* (capítulo 21 y caso 13, capítulo 48) se diagnostica en la sala de exploración al revisar la secreción vaginal; dicho material: 1) es grisaseo y a veces espumoso; 2) tiene un pH mayor de 4.6; 3) tiene un olor a aminas ("pescado") cuando se alcaliniza con hidróxido de potasio y 4) contiene "células características", que son células epiteliales grandes cubiertas con bacilos gramnegativos o gramvariables. Se utilizan observaciones similares para diagnosticar la infección por *Trichomonas vaginalis* (capítulo 46); se pueden identificar los microorganismos móviles en preparados húmedos o cultivados de secreción genital. El cultivo de *Trichomonas*, las sondas de DNA y las NAAT recién aprobadas son mucho más sensibles que los métodos húmedos. La vaginitis por *Candida albicans* se diagnostica mediante la detección de seudohifas en un preparado con hidróxido de potasio, de la secreción vaginal, por sondas o por cultivo.

INFECCIONES POR ANAEROBIOS

La mayor parte de las bacterias que componen la microbiota humana normal es anaerobia. Cuando aquellas se desplazan de sus sitios normales y pasan a tejidos o espacios corporales pueden ocasionar enfermedades. Algunas características sugieren la infección anaerobia: 1) a menudo surge en zonas contiguas a una superficie mucosa; 2) tiende a presentarse como combinación de microorganismos; 3) estas bacterias tienen proclividad a generar infecciones en espacios cerrados, como abscesos circunscritos (de pulmón, cerebro, pleura, peritoneo o pelvis) o al

socavar a través de capas hísticas; 4) el pus de las infecciones por anaerobios es fétido; 5) muchos de los anaerobios importantes desde el punto de vista patogénico, salvo *Bacteroides* y algunas *Prevotella,* son muy susceptibles a la penicilina G; 6) las infecciones por anaerobios surgen fácilmente cuando disminuye el riego sanguíneo, si hay tejido necrótico o cuando es bajo el potencial de oxidorreducción, factores que interfieren en la llegada de antibióticos a esa zona; 7) es esencial el uso de métodos especiales de recolección, de medios de transporte y técnicas y medios sensibles a anaerobios para aislarlos. De no seguir tales precauciones, a veces no se identifican en el análisis bacteriológico o sólo se detectan de forma accidental los aerobios (capítulo 21).

Los aparatos y sistemas siguientes constituyen sitios de importantes infecciones por anaerobios.

Aparato respiratorio

Las infecciones periodontales, los abscesos peribucales, la sinusitis y la mastoiditis se originan de manera predominante de *Prevotella melaninogenica, Fusobacterium* y peptoestreptococos. La aspiración de saliva puede ocasionar neumonía necrosante, abscesos pulmonares y empiema. Para el tratamiento, son esenciales los antibióticos y el drenaje postural o quirúrgico.

Sistema nervioso central

Los anaerobios rara vez causan meningitis, pero son fuente habitual de abscesos cerebrales, empiema subdural y tromboflebitis séptica. Los microorganismos casi siempre provienen de las vías respiratorias y llegan al cerebro, por extensión o por la sangre.

Infecciones intraabdominales y pélvicas

La microbiota del colon comprende de modo predominante anaerobios a razón de 10^{11} por gramo de heces. *Bacteroides flagilis,* clostridios y peptoestreptococos tienen una participación muy importante en la formación de abscesos, que surgen en caso de perforación del intestino. En los abscesos pélvicos, que se originan en el aparato genital de la mujer, son importantes *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens.* A semejanza de *B. flagilis,* los microorganismos mencionados suelen ser relativamente resistentes a la penicilina; por tal razón, ha de administrarse clindamicina, metronidazol u otro fármaco eficaz.

Infecciones cutáneas y de tejidos blandos

Los anaerobios y las bacterias aerobias a menudo se complementan para originar infecciones sinérgicas (gangrena, fascitis necrosante y celulitis). Las modalidades más importantes de tratamiento en tales casos son el drenaje quirúrgico, la extirpación y la optimación de la circulación, en tanto actúan como complemento los antibióticos. Suele ser difícil atribuir a un solo microorganismo específico la lesión progresiva, porque por lo general participan combinaciones de ellos.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR CLAMIDIAS

Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae y *Chlamydophila psittaci* son bacterias, pero son parásitos intracelulares estrictos. Para los cultivos y otros métodos diagnósticos de identificación de clamidias se necesitan técnicas muy similares a las usadas en los laboratorios de virología diagnóstica y no las que se utilizan en los de bacteriología y micología. Por esa razón, el diagnóstico de infecciones por clamidias se expone en una sección separada de este capítulo. El diagnóstico de tales infecciones con técnicas de laboratorio también se señala en el capítulo 27.

Muestras

En el caso de las infecciones oculares y genitales por *C. trachomatis*, deben obtenerse las muestras de los sitios infectados para análisis directo o cultivo, por medio de presión vigorosa de los hisopos o raspado de la superficie epitelial afectada. Los cultivos de secreciones purulentas no son adecuados y, antes de obtener la muestra, se elimina dicho material. De ese modo, en el caso de la conjuntivitis de inclusión, se lleva a cabo un raspado conjuntival; en pacientes con uretritis, se recolecta una muestra con hisopo, de un tramo que mida algunos centímetros del interior de la uretra y, en personas con cervicitis, la muestra se obtiene de la superficie de células cilíndricas del conducto endocervical. Es posible utilizar muestras que se recolectan con hisopo u orina para las pruebas de amplificación de ácido nucleico. Cuando en una mujer se sospecha una infección de la zona superior del aparato genitourinario, una muestra adecuada sería la de raspado del endometrio. El líquido obtenido por culdocentesis o aspiración de la trompa uterina produce escasos microorganismos (*C. trachomatis*) en el cultivo.

En el caso de *C. pneumoniae*, conviene utilizar muestras nasofaríngeas recolectadas con hisopo (no de la faringe).

En los pacientes con linfogranuloma venéreo, el material de aspiración de los bubones o los ganglios fluctuantes constituye la mejor muestra para cultivo.

En lo que se refiere a la psitacosis, por medio del cultivo de esputo, sangre o material de biopsia se puede identificar *C. psittaci*; la técnica anterior no se lleva a cabo de modo habitual en los laboratorios clínicos, porque obliga a efectuar métodos especializados y también por el peligro que conlleva para el personal de laboratorio.

Las muestras obtenidas con hisopo, raspado y de tejidos deben colocarse en un medio (de laboratorio) adecuado para el transporte. Uno de ellos, que es útil, incluye sacarosa a razón de 0.2 mol/L en una solución amortiguadora de fosfato al 0.02 M con pH de 7.0 a 7.2, con suero al 5% de feto de ternera. Otros medios de transporte pueden ser igualmente idóneos. El medio de transporte, debe contener antibióticos para suprimir la proliferación de bacterias diferentes de clamidias. Puede usarse en combinación con los siguientes antibióticos porque no se inhibe la proliferación de dicho microorganismo; gentamicina, 10 µg/ml; vancomicina, 100 µg/ml y, anfotericina B, 4 µg/ml. Si es imposible preparar y estudiar con rapidez las muestras, habrá que refrigerarlas durante 24 h; de lo contrario, se les congela a < 60 °C o una temperatura menor hasta que se trabaje con ellas.

Estudios microscópicos y tinciones

El estudio citológico es importante y eficaz sólo para el estudio de raspados conjuntivales a fin de diagnosticar conjuntivitis de inclusión y tracoma causados por *C. trachomatis*. Se identifican las típicas inclusiones intracitoplásmicas, de manera clásica en

las muestras teñidas con técnica de Giemsa. Cabe emplear los anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína para el estudio directo de muestras del aparato genitourinario y oculares, pero no tienen la misma sensibilidad que el cultivo o los métodos de diagnóstico molecular cuando se buscan clamidias.

Cultivo

Cuando se necesita cultivo, se recomiendan técnicas idóneas celulares para el aislamiento de *Chlamydia*. El cultivo para encontrar *C. trachomatis* y *C. psittaci* casi siempre comprende la inoculación de las muestras clínicas en células de McCoy tratadas con cicloheximida, en tanto para identificar *C. pneumoniae* se necesitan células de HL (linfoma histiocítico [*hystiocitic lymphoma*]) o HEP-2 (células de tumor laríngeo humano [*human laringeal tumor cells*]) pretratadas. Para *C. trachomatis* se utiliza inmunofluorescencia, tinción de Giemsa o colorante yodado para detectar las inclusiones intracitoplásmicas. De las tres técnicas anteriores, las inmunofluorescentes son las más sensibles, pero necesitan reactivos inmunofluorescentes especiales y técnicas microscópicas peculiares. El método de Giemsa es más sensible que el yodo, pero la revisión microscópica es más difícil.

Las inclusiones de *C. trachomatis* captan el yodo, pero no lo hacen las de *C. pneumoniae* y *C. psittaci* (capítulo 27). Estos dos microorganismos se diferencian de *C. trachomatis* por sus respuestas diferentes a la tinción con yodo y por su susceptibilidad a la sulfonamida. *Chlamydophilia pneumoniae* en cultivo se detecta por medio de un anticuerpo monoclonal con especificidad de género o, aún mejor, con especificidad de especie. Las técnicas serológicas para diferenciación por especies no son prácticas, aunque *C. trachomatis* puede identificarse mediante el método de microinmunofluorescencia.

Detección de antígeno e hibridación de ácido nucleico

Los enzimoinmunoanálisis (EIA) se utilizan para detectar antígenos de clamidia en muestras de aparato genitourinario en personas con enfermedades de transmisión sexual. En comparación con las NAAT más sensibles para encontrar clamidias (véase adelante), los EIA tienen una sensibilidad mucho menor. Aún son útiles los métodos de anticuerpos fluorescentes directos (DFA, *direct fluorescent antibody)* para estudiar algunas muestras de sitios extragenitales, como las conjuntivas en recién nacidos. Se dispone de métodos de amplificación del ácido nucleico con base en PCR, TMA o amplificación del desplazamiento de hebras. Tales estudios son mucho más sensibles que el cultivo y otros métodos sin amplificación; tienen gran especificidad (capítulo 27).

Serología

El método de fijación de complemento (CF, *complement fixing*) se utiliza ampliamente para diagnosticar psitacosis. El diagnóstico serológico de las clamidosis se expone en el capítulo 27.

El método de microinmunofluorescencia es más sensible que el de CF para cuantificar los anticuerpos contra clamidia. Tiene valor de confirmación diagnóstica cuando la concentración de anticuerpos IgG aumenta cuatro tantos, en los sueros de la fase aguda y de convalecencia. Sin embargo, a veces es difícil demostrar el incremento de la concentración de dicha inmunoglobulina por las elevadas cuantificaciones que posee ya la población sexualmente activa. La medición de anticuerpos IgM es útil en particular en el diagnóstico de neumonía por *C. trachomatis* en recién nacidos. Los hijos de madres con clamidiosis tienen anticuerpos séricos de tipos IgG anticlamidias, provenientes de la circulación materna. Los recién nacidos con infecciones de ojos o vías respiratorias superiores tienen cuantificaciones pequeñas de IgM contra clamidia, en tanto que quienes padecen neumonía por clamidias poseen cantidades de dicha inmunoglobulina de 1:32 o mayores.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES VIRALES

En la virología diagnóstica, se necesita comunicación entre el médico y el personal de laboratorio; el diagnóstico depende de la buena calidad de las muestras y de la información que llegue a ese personal.

La selección de métodos para confirmar la presencia de una infección por virus, por medios de laboratorio, depende de la fase de la enfermedad (cuadro 47-4). Para las pruebas de anticuerpos se necesita obtener muestras a intervalos apropiados y, a menudo, el diagnóstico se confirma sólo en la convalecencia. El aislamiento de un virus o la detección de su antígeno o las NAAT son necesarios: 1) cuando surgen epidemias nuevas, como el caso de la gripe (influenza); 2) si los métodos serológicos son inútiles y 3) cuando la misma enfermedad pueden causarla múltiples virus diferentes. Por ejemplo, la meningitis aséptica (no bacteriana) puede originarse de innumerables virus; de forma similar, los síndromes de vías respiratorias pueden deberse a innumerables virus y también a micoplasmas y otros microorganismos.

Los métodos diagnósticos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos pronto sustituirán a algunos de los cultivos en busca de virus, aunque no todos. Sin embargo, no cambiará la necesidad de obtención de una muestra apropiada y la interpretación de los datos de las pruebas. Además, surgen situaciones en que se desea la recuperación del agente infeccioso.

Con el aislamiento de un virus tal vez no se defina la causa de una enfermedad particular y, en esos casos, hay que considerar otros factores. Algunos virus persisten en los hospedadores

CUADRO 47-4 Relación de la etapa de la enfermedad con la presencia del virus en materiales de análisis y aparición del anticuerpo específico

Etapa o periodo de la enfermedad	Virus detectable en materiales de estudio	Anticuerpo específico demostrable[a]
Incubación	Rara vez	No
Pródromo	En ocasiones	No
Comienzo	Con frecuencia	En ocasiones
Fase aguda	Con frecuencia	Con frecuencia (IgM, algunas veces IgG)
Recuperación	Rara vez	Por lo regular (IgM, IgG)
Convalecencia	Muy rara vez	Por lo regular (sólo IgG)

[a] El anticuerpo se puede detectar desde fase muy temprana en personas vacunadas.

humanos por mucho tiempo y, por esa razón, la identificación de virus herpético, de polio, ECHO o coxsackie de una persona con una enfermedad no diagnosticada no equivale a que el virus la genere. Es importante definir un perfil clínico y epidemiológico congruente antes de afirmar que un agente particular causó un cuadro clínico específico.

Es posible aislar con alguna facilidad muchos virus en los primeros días de la enfermedad. Las muestras por utilizar en los intentos de aislamiento se incluyen en el cuadro 47-5. Una correlación del virus aislado y la presencia de anticuerpos es útil para corroborar el diagnóstico, aunque aquella es una técnica que pocas veces se practica.

Las muestras se refrigeran incluso 24 h antes de realizar los cultivos en busca de virus, con la excepción de los virus sincicial respiratorio y otros más. De no ser así, habrá que refrigerar el material (de preferencia a <60 °C o temperaturas menores), si existe algún retraso en su transporte al laboratorio. Las muestras que no deben congelarse incluyen: 1) sangre extraída para cuantificación de anticuerpos, a partir de la cual debe separarse el suero antes de congelarla y 2) tejidos para cultivo de órganos y células que deben conservarse a 4 °C y enviarse de inmediato al laboratorio.

El virus se desarrolla en enfermedades de vías respiratorias, en las secreciones de faringe o las vías nasales; su presencia se demuestra en el líquido de la faringe y en el material de raspado de la base de los exantemas vesiculares. En infecciones oculares, puede encontrarse el virus en el material obtenido con hisopos o raspado de conjuntivas y en las lágrimas. Las encefalitis se diagnostican con mayor facilidad si se cuenta con medios serológicos o métodos de amplificación de ácidos nucleicos. Los arbovirus y los herpesvirus casi nunca se detectan en el LCR, pero el tejido encefálico en personas con encefalitis viral puede aportar el agente causal. En las enfermedades generadas por enterovirus, como las del SNC, la pericarditis aguda y la miocarditis, es posible aislar el virus de heces, exudado faríngeo obtenido con hisopo o LCR. Sin embargo, como se comentó, las NAAT constituyen uno de los métodos preferidos para hallar enterovirus en dicho líquido. Las pruebas con anticuerpos fluorescentes directos quizá posean la misma sensibilidad que los cultivos para identificar infecciones de vías respiratorias por virus sincitial respiratorio, de las gripes A y B, de parainfluenzas y adenovirus. Los estudios en cuestión generan datos esclarecedores horas después de haber reunido la muestra, en comparación con los días que deben transcurrir para obtener los resultados del cultivo de virus. Sin embargo, dichos métodos de detección rápida de antígeno han sido sustituidos poco a poco por técnicas igualmente rápidas de PCR en tiempo real y de micromatriz multigénica que permiten la detección simultánea de diversos virus de interés.

Examen directo del material clínico: técnicas microscópicas y tinciones

Entre las enfermedades por virus en que ha sido útil el estudio microscópico directo de impresiones o frotis están la rabia y la infección por herpes simple y las infecciones cutáneas por varicela-zóster. El método más indicado para el diagnóstico corriente de rabia es teñir los antígenos virales por inmunofluorescencia en frotis de tejido encefálico e impresiones corneales del animal rabioso y de la piel de la nuca de los seres humanos.

Cultivo del virus

A. Preparación de los inóculos

Es posible inocular directamente en cultivos celulares o después de dilución con solución de fosfato amortiguada (pH 7.6) los líquidos sin bacterias como el cefalorraquídeo, el sanguíneo total, el plasma o la capa de leucocitos. Sólo en laboratorios especializados se practica la inoculación de huevos embrionados o de animales para aislar el virus.

El tejido se lava en medios idóneos o agua estéril, se fragmenta en segmentos pequeños con tijeras y se muele para hacer una pasta homogénea. Se le agrega diluyente en cantidades suficientes para obtener una concentración de 10 a 20% (peso/volumen); la suspensión se centrifuga a una velocidad que se sedimenten los restos celulares insolubles. El líquido sobrenadante puede inocularse y, si incluye bacterias, éstas se eliminan, tal como se expondrá adelante.

Los tejidos también pueden tratarse con tripsina y la suspensión celular resultante puede: 1) inocularse en una monocapa celular de un cultivo hístico existente o 2) cultivarse de manera conjunta con otras suspensiones de células, en las que se tenga la certeza de que no hay virus.

Si el material por estudiar contiene bacterias (de lavado faríngeo, heces, orina, tejido infectado o insectos), éstas deben inactivarse o eliminarse antes de la inoculación.

1. Bactericidas. Los antibióticos suelen utilizarse en combinación con la centrifugación diferencial (véase más adelante).

2. Métodos mecánicos

a. Filtros. Se prefieren los filtros de membrana de tipo *millipore*, de acetato de celulosa o de un material inerte similar con 20 m de tamaño del poro para eliminar las bacterias.

b. Centrifugación diferencial. Constituye un método cómodo para eliminar muchas bacterias, de preparados de virus pequeños, fuertemente contaminados. Las bacterias se sedimentan a baja velocidad, la cual no logra sedimentar a los virus, pero con la centrifugación a gran velocidad sí se sedimentan estos últimos. Después de ello, el sedimento con los virus se suspende de nuevo en un volumen pequeño de la solución.

B. Cultivo en cultivo celular

Se han sustituido las técnicas de cultivo celular por métodos de detección de antígeno y técnicas de NAAT. No obstante, aquellas siguen siendo útiles y se les emplea en laboratorios clínicos y de salud pública especializados en virología. Cuando los virus se multiplican en un cultivo celular originan efectos biológicos (p. ej., cambios citopáticos, interferencia viral, producción de una hemaglutinina), los cuales permiten identificar el microorganismo.

Los cultivos en tubos de ensayo se preparan al adicionar células suspendidas en 1 a 2 ml de líquido nutriente que contiene soluciones salinas equilibradas y varios factores de crecimiento (casi siempre suero, glucosa, aminoácidos y vitaminas). Las células de naturaleza fibroblástica o epitelial se fijan y proliferan en la pared del tubo de ensayo, donde se les puede examinar con un microscopio de baja potencia.

CUADRO 47-5 Infecciones por virus: síndromes y virus, tipo de muestras y métodos diagnósticos

Síndrome y virus	Tipo de muestra	Sistema de detección	Comentarios
Enfermedades de vías respiratorias			
Virus de influenza	Material NP (exudado faríngeo), BAL	Cultivo celular, FA directo, antígeno rápido, PCR	Las pruebas de antígeno rápido son insensibles y las más sensibles son PCR
Virus de parainfluenza	Material de NP obtenido con hisopo, BAL	Cultivo celular, FA directa, PCR	PCR es el estudio más sensible
Virus sincicial respiratorio	Material NP obtenido con aplicador, BAL	Cultivo celular, FA directo, antígeno rápido, PCR	Las pruebas de antígeno rápido son insensibles; las más sensibles con PCR
Adenovirus	Material NP con hisopo, BAL, heces, material conjuntival obtenido con hisopo	Cultivo celular, FA directa, PCR; EIA para detectar adenovirus entéricos	Muchos serotipos no se recuperan en los cultivos; PCR es el más sensible
Enfermedades febriles			
Dengue y otras fiebres por arbovirus	Suero, LCR, muestras de biopsia, vector (mosquito *Aedes*)	Cultivo celular, estudios serológicos, PCR	Muchos virus de este grupo son muy infectantes y se transmiten con facilidad entre el personal de laboratorio. Algunos deben ser estudiados solamente en laboratorios con nivel de bioseguridad 3/4
Fiebres hemorrágicas			
Encefalitis			
Arbovirus	Suero, LCR, material nasofaríngeo obtenido con hisopo	Ratones que amamantan, cultivo celular, PCR	Muchos virus de este grupo son muy infectantes y se transmiten con facilidad entre el personal de laboratorio. Algunos deben ser estudiados solamente en laboratorios con nivel de bioseguridad 3/4
Enterovirus	LCR, material faríngeo obtenido con hisopo, heces	Cultivo celular, PCR	Cultivo de material de faringe o heces utilizadas como prueba de infección en una persona sintomática; PCR es el estudio más sensible
Virus de rabia	Saliva, material cerebral y cutáneo de biopsia (de nuca)	PCR, IF directa	El tratamiento se basa en los síntomas clínicos
Herpesvirus	LCR	Cultivo celular, PCR	PCR es el estudio más sensible y no se recomienda el cultivo
Meningitis			
Enterovirus	LCR	Cultivo celular, PCR	PCR es el estudio más sensible y no se recomienda realizar cultivos
Virus de parotiditis	LCR, material nasofaríngeo con hisopo, orina	Cultivo celular, PCR	PCR es el más sensible

(*continúa*)

CUADRO 47-5 Infecciones por virus: síndromes y virus, tipo de muestras y métodos diagnósticos (*continuación*)

Síndrome y virus	Tipo de muestra	Sistema de detección	Comentarios
Mononucleosis infecciosa			
Virus de Epstein-Barr (EB)	Sangre, material nasofaríngeo obtenido con hisopo	Anticuerpos heterófilos (prueba rápida de mononucleosis infecciosa), PCR, estudios serológicos	La prueba rápida de mononucleosis infecciosa se usa para diagnosticar infección aguda; PCR se usa para vigilar trastornos linfoproliferativos después de trasplante
Citomegalovirus	Sangre, orina y material faríngeo obtenido con hisopo	Cultivo celular; centrifugación y cultivo; detección de antígeno, PCR	La centrifugación y el cultivo generan resultados más rápidos que el cultivo sistemático; PCR se utiliza para vigilar a pacientes a quienes se hizo un trasplante, en busca de reactivación
Hepatitis			
Hepatitis por virus A	Suero, heces	Estudios serológicos, PCR	Estudios serológicos para buscar IgM y diagnosticar infección aguda
Hepatitis por virus B	Suero	Estudios serológicos, PCR	El estudio serológico se usa para diagnosticar la infección; PCR cuantitativo se utiliza para vigilar a los pacientes
Hepatitis por virus C	Suero	Estudios serológicos, PCR	El estudio serológico se utiliza para diagnosticar infección; PCR cuantitativo se utiliza para vigilar a los pacientes
Hepatitis por virus D	Suero	Estudios serológicos, PCR	Solamente es útil para réplica en presencia de hepatitis B
Enteritis			
Rotavirus	Heces	Identificación de antígeno, PCR	
Agente Norwalk, calicivirus, astrovirus	Heces	PCR	
Exantemas			
Virus de varicela-zóster	Líquido de vesículas	Cultivo celular, anticuerpos fluorescentes directos, PCR	Los anticuerpos fluorescentes directos son más sensibles que el cultivo
Virus de sarampión	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, sangre, orina	Cultivo celular, anticuerpo fluorescente directo, PCR	PCR es el más sensible
Virus de rubéola	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, sangre, orina	Cultivo celular, estudios serológicos, PCR	El estudio serológico es el utilizado en embarazadas; PCR es más sensible en la enfermedad aguda
Virus de viruela de los simios, vacuna y variolovacuna, y tanapox	Líquido de vesícula	Cultivo celular, PCR, microscopia electrónica	Las pruebas se realizan solamente en laboratorios de salud pública
Virus de herpes simple	Vesículas por lo común de boca o genitales	Cultivo directo, antígeno por fluorescencia directa, PCR	Los cultivos por lo común se tornan positivos en un lapso de 24 a 72 h; el antígeno fluorescente directo es rápido
Parvovirus	Sangre	Estudios serológicos, PCR	

(*continúa*)

apter 47_Carroll_4R.indd 766 15/04/16

CUADRO 47-5 Infecciones por virus: síndromes y virus, tipo de muestras y métodos diagnósticos (*continuación*)

Síndrome y virus	Tipo de muestra	Sistema de detección	Comentarios
Parotiditis			
Virus de parotiditis	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, orina	Cultivo celular, PCR, estudios serológicos	El estudio serológico es útil para identificar el estado de vacunación; PCR es más sensible en casos de infección aguda
Anomalías congénitas			
Por virus citomegálico	Orina, material faríngeo obtenido por aplicador, líquido amniótico, sangre	Cultivo celular, centrifugación y cultivo, PCR	
Rubéola	Material faríngeo obtenido con hisopo, LCR, sangre	Cultivo celular, estudios serológicos, PCR	Los estudios serológicos se utilizan para identificar la exposición durante el embarazo
Conjuntivitis			
Por herpes simple	Material conjuntival obtenido o con hisopos	Cultivo celular, centrifugación y cultivo, PCR	PCR es el estudio más sensible
Herpes zóster	Material conjuntival obtenido o con hisopos	Antígeno por fluorescencia directa, PCR	
Adenovirus	Material conjuntival obtenido o con hisopos	Cultivo celular, PCR	
Enterovirus	Material conjuntival obtenido o con hisopos	Cultivo celular, PCR	
Sida (síndrome de inmunodeficiencia adquirida)			
Virus de inmunodeficiencia humana	Sangre	Estudios serológicos, PCR	El diagnóstico se hace por empleo de métodos serológicos o pruebas combinadas de antígeno-anticuerpo; PCR cuantitativo se usa para la vigilancia del paciente
Infecciones por Papovavirus			
Papovavirus humano JC	LCR, tejido cerebral	PCR	
Papovavirus humano BK	Sangre, orina	PCR	PCR cuantitativo se utiliza para vigilar a personas que han recibido riñones en trasplante

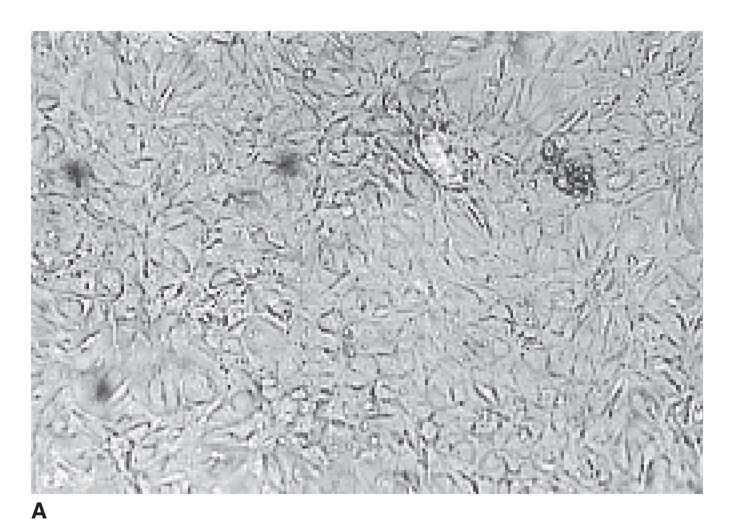
LCR, líquido cefalorraquídeo; DFA, anticuerpo fluorescente directo; FA, anticuerpo fluorescente; PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

En el caso de muchos virus, la proliferación del agente ocurre de modo simultáneo a la degeneración de tales células (figura 47-1). Algunos virus generan un efecto citopático (CPE, *cytopathic effect*) característico en el cultivo celular (contracción, turgencia, redondeamiento de las células, formación de sincicios o grupos) lo cual permite un diagnóstico presuncional rápido cuando se conoce el síndrome clínico. Por ejemplo, el virus sincicial respiratorio de manera característica genera células gigantes multinucleadas (sincicios), en tanto que los adenovirus producen cúmulos estafiloides de grandes células redondas. Algunos virus (como el de rubéola) no originan efectos citopáticos directos, pero se les detecta al interferir en el CPE de un segundo virus estimulante (interferencia viral). Los virus de la influenza y algunos paramixovirus pueden detectarse en un plazo de 24 a 48 h si se agregan eritrocitos a los cultivos infectados. Los virus que maduran en la membrana celular producen una hemaglutinina que permite a los eritrocitos adsorberse en la superficie celular (hemadsorción). Es posible identificar la identidad del virus aislado mediante un antisuero con especificidad del tipo que inhibe la proliferación del virus o que reacciona con sus antígenos.

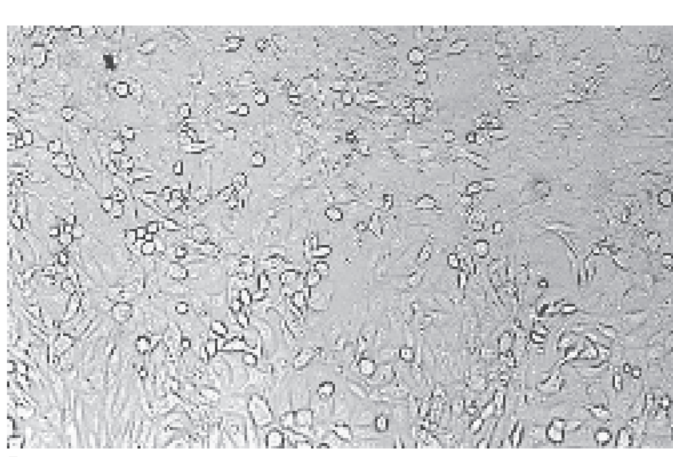
Algunos virus pueden proliferar en cultivo, pero se trata de un proceso muy lento y difícil. Para diagnosticar las infecciones de ese tipo se recurre a otros estudios en vez del cultivo (véase adelante).

C. Método de centrifugación y cultivo para el diagnóstico temprano del citomegalovirus

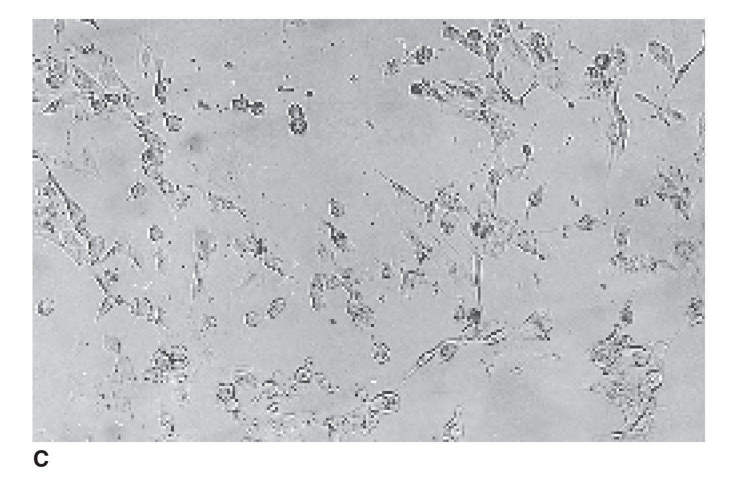
Este método permite la detección rápida de virus en muestras clínicas; se le ha adaptado para la identificación de algunos virus como el citomegalovirus (CMV) y el de varicela-zóster. Por ejemplo, es posible detectar el CMV en 18 a 24 h, en comparación con las dos a cuatro semanas que eran necesarias con el cultivo celular tradicional; son similares las sensibilidades del método de centrifugación y cultivo y el cultivo tradicional en busca de CMV. Se obtienen monocapas de la estirpe celular adecuada por proliferación (p. ej., células MRC-5 [*Medical Research Council-5*] para CMV) en cubreobjetos de viales de 15 × 45 mm. Después de la inoculación con la muestra, las viales se centrifugan a 700 × *g* durante 40 min a temperatura ambiental para permitir la unión del virus a la célula. Se incuban a 37 °C durante 16 a 24 h, se fijan y se intenta la reacción con un anticuerpo monoclonal que sea específico para una proteína nuclear de CMV, que está presente desde una fase muy temprana en el cultivo. Se utilizan los métodos de tinción directa o indirecta de anticuerpos y microscopia por fluorescencia para identificar los cultivos positivos con esta técnica. Se deben incluir testigos positivos y negativos en cada análisis. Se ha creado una modificación de esta técnica para la recuperación y la detección simultánea de múltiples virus de vías respiratorias que utilizan células R-Mix. Un vial contiene mezcla de dos estirpes celulares, como el carcinoma de pulmón humano A549 y los fibroblastos del pulmón del visón Mv1Lu. De forma típica, el personal de laboratorio inocula a dos viales de ese tipo. Después de la incubación de 18 a 24 h, se tiñe el material de un vial por medio de un reactivo de anticuerpos fluorescentes "de varios donadores" que detecta todos los virus comunes de vías respiratorias. Si la tinción es positiva, como paso siguiente se raspan las células en



A



B



C

FIGURA 47-1 Ejemplos del efecto citopático viral en cultivo celular. A: Monocapa de células renales normales de mono, sin tinción, en cultivo, en que se advierte la monocapa celular (120x). **B:** Cultivo de células renales de mono sin teñir, en que se observa la fase inicial de los efectos citopáticos que son típicos de la infección por enterovirus; muestra células redondeadas (120x). En promedio, 25% de las células en el cultivo presenta los efectos citopáticos que denotan multiplicación del virus (efectos citopáticos, 1+). **C:** Cultivo de células renales de mono no teñidas en que se observa el efecto citopático de enterovirus en fase más avanzada (efectos citopáticos 3 + a 4 +) (120x). Se observa que casi 100% de las células están afectadas y gran parte de la capa celular se ha desprendido de la pared y el tubo de cultivo.

el cubreobjetos del segundo vial, se inoculan en una laminilla del octavo cuenco y se tiñen luego con reactivos de anticuerpo monoclonal individual que detecta el virus específico. No se obtienen muestras del microorganismo por medio de la técnica de centrifugación y cultivo. Si se necesitan microorganismos para pruebas de susceptibilidad para antivirales, se usa la clásica técnica de cultivo celular.

Sistema viral inducible con enzimas (ELVIS, *Enzyme-Linked Virus-Inducible System*)

El método mencionado utiliza una línea celular patentada para detectar HSV en cultivos. Se efectuó modificación genética de una estirpe de células renales de hámsters muy jóvenes y para ello se utilizó la secuencia promotora del gen de UL97 de HSV y de *E. coli lacZ*. La presencia del virus del herpes en muestras clínicas activa al promotor UL97, que a su vez activa al gen *lacZ* para producir la enzima β galactosidasa. Al agregar un sustrato de la enzima, surge un color azul que denota la presencia del virus. La tipificación del virus de HSV se realiza en cultivos en que existe la partícula, al agregar anticuerpos monoclonales que detectan HSV-1 o HSV-2.

Detección de antígenos

La detección de antígenos virales se usa ampliamente en virología diagnóstica. Se cuenta con estuches comerciales con material para detectar muchos virus, como los del herpes simple I y II, de las gripes A y B, el sincicial respiratorio, el adenovirus, el de parainfluenza, el rotavirus y el CMV. También se utilizan múltiples tipos de cuantificaciones: EIA, anticuerpos fluorescentes directos o indirectos, aglutinación de látex y otros más. Las técnicas anteriores permiten detectar virus que no proliferan con facilidad en cultivo celular (p. ej., rotavirus o virus de hepatitis A) o que lo hacen con mucha lentitud (p. ej., CMV). En general, las técnicas de detección de antígeno de virus son menos sensibles que los métodos de cultivo y las NAAT. Como se señaló, muchos de estos procedimientos se han sustituido con técnicas moleculares.

Microscopia inmunoelectrónica

Los virus que no se detectan mediante las técnicas corrientes pueden observarse en la microscopia inmunoelectrónica (IEM, *immune electron microscopy*). Los complejos antígeno-anticuerpo o los agregados formados entre las partículas de virus en suspensión se originan de la presencia de anticuerpos en el antisuero adicionado y se detectan con mayor facilidad y seguridad que las partículas virales individuales. La IEM se utiliza para buscar virus que causan enteritis y diarrea; casi nunca pueden cultivarse en los medios habituales para virus.

Amplificación de ácido nucleico y detección

Se cuenta con muy diversas técnicas comerciales cuantitativas para detectar ácido nucleico de virus o para amplificarlo e identificarlo. Los métodos en cuestión rápidamente se han tornado las técnicas normativas en virología diagnóstica y han sustituido a los procedimientos tradicionales de cultivo de virus y detección de antígeno. Los métodos incluyen la PCR; la PCR de transcriptasa inversa y otros métodos patentados (véase antes la sección Diagnóstico molecular). Estos procedimientos permiten detectar virus (p. ej., los enterovirus y otros más) y cuantificarlos (p. ej., VIH-1, CMV, de Epstein-Barr, de hepatitis B, C y VIH). Se utilizan datos de técnicas cuantitativas para orientar en el tratamiento antiviral en el caso de enfermedades por virus múltiples.

Hibridación de ácidos nucleicos

Esta técnica, que se usa para detectar virus, es muy sensible y específica. La muestra se distribuye en gotas pequeñas en una membrana de nitrocelulosa y se logra la fijación del ácido nucleico viral que está en la muestra; después se desnaturaliza con álcali *in situ*, se obtiene la hibridación con un fragmento del ácido nucleico del virus marcado y se detectan los productos de la hibridación. En el caso del rotavirus que contiene RNA bicatenario, el método de hibridación es más sensible que el EIA. El RNA, en muestras de heces desnaturalizadas por calor que contienen el rotavirus, se inmoviliza siguiendo los pasos anteriores y se emprende la hibridación *in situ* con sondas monocatenarias marcadas obtenidas por la trascripción *in vitro* del rotavirus.

Secuenciación de ácido nucleico

La secuencia de los virus se identifica y se utiliza para definir la cepa particular que infecta a un paciente. La información obtenida se utiliza para pronosticar la resistencia de algunos virus a fármacos, como los de VIH, hepatitis C y CMV. La secuencia génica del virus se compara con bases de datos especializadas que contienen mutaciones de resistencia identificadas, definidas por medio de cultivos *in vitro* o de la ineficacia terapéutica clínica; así se genera la notificación en relación con el perfil posible de resistencia respecto al virus. Estos métodos de detección son útiles cuando se conoce el mecanismo de resistencia a fármacos y se cuenta con otras opciones terapéuticas contra cepas resistentes.

Cuantificación de la respuesta inmunitaria a la infección por virus

De manera típica, una infección por virus desencadena respuestas inmunitarias dirigidas contra uno o más de los antígenos de la partícula. Por lo regular, surgen las dos respuestas inmunitarias, de tipo celular y humoral, y cabe medir una u otra para diagnosticar la infección por virus. La inmunidad de tipo celular se puede valorar por la técnica de hipersensibilidad dérmica, transformación de linfocitos y citotoxicidad. Las respuestas inmunitarias humorales asumen enorme importancia diagnóstica. Al inicio, se producen los anticuerpos de la clase IgM y surgen después los anticuerpos de tipo IgG. Los anticuerpos IgM desaparecen en cuestión de semanas, en tanto que los de tipo IgG persisten años. La confirmación del diagnóstico de una infección por virus se logra mediante métodos serológicos, al demostrar el incremento en la concentración de anticuerpo contra el virus o al conformar la presencia de anticuerpos de la clase IgM contra el virus (capítulo 8). Los métodos utilizados

comprenden la prueba de neutralización (Nt), la de CF, la de inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*) y las pruebas de inmunofluorescencia, hemaglutinación pasiva e inmunodifusión.

La medición de anticuerpos por métodos diferentes no genera necesariamente resultados en paralelo o equivalentes. Los anticuerpos detectados por fijación de complemento están presentes durante una infección por enterovirus y en el periodo de convalecencia, pero no persisten. Los anticuerpos hallados por neutralización también se producen durante la infección y persisten muchos años. La valoración de los anticuerpos por diversos métodos en sujetos o en grupos de ellos aporta información diagnóstica y datos de las características epidemiológicas de la enfermedad.

Los métodos serológicos para el diagnóstico viral son más eficaces cuando el virus tiene un largo periodo de incubación antes de que surjan las manifestaciones clínicas. Una lista parcial de estos virus incluyen los de Epstein-Barr, de hepatitis y el VIH. De forma clásica, la identificación de los anticuerpos contra dichos virus constituye la primera medida en el diagnóstico y más adelante se practica la amplificación de ácido nucleico, para valorar las concentraciones del virus circulante, como una estimación del nivel de infección o la respuesta a regímenes antivirales específicos o ambas. Otra utilidad importante de los métodos serológicos es conocer la vulnerabilidad de la persona o la exposición previa a un virus y la posibilidad de que se reactive en el contexto de inmunodepresión o de trasplante de un órgano.

Los algoritmos para el diagnóstico de infecciones virales se han modificado conforme el desarrollo de nuevas técnicas de cuantificación que arrojen mejores resultados. Un ejemplo satisfactorio de tal situación es la evolución de los métodos para diagnosticar VIH. Los inmunoanálisis para detectar dicho virus han evolucionado de la primera a la tercera generaciones y han logrado sensibilidad y especificidad mayores. Las técnicas de la cuarta generación agregaron la detección del antígeno p24 de VIH para permitir la identificación más temprana de infecciones. Antes de 2014 para el diagnóstico de VIH se necesitaba de estudios serológicos positivos por medio de inmunotransferencia, la cual comprende la unión de los anticuerpos del suero del paciente a proteínas de VIH separadas por electroforesis. Los perfiles específicos de la unión con anticuerpos son los que permiten que una prueba de inmunotransferencia sea positiva, negativa o su resultado sea indeterminado. El nuevo algoritmo utiliza una combinación de métodos de cribado de inmunoanálisis de VIH-1/2 antígeno/anticuerpo, seguido de técnicas de diferenciación específicas de VIH-1/VIH-2. Las muestras negativas o indeterminadas por medio de métodos de diferenciación se someten como paso siguiente a estudios en busca de ácido nucleico, para así detectar infecciones agudas en el periodo de margen terapéutico, en las cuales se produce ácido nucleico del virus, pero aún no se forman anticuerpos. El algoritmo actual para las pruebas de VIH es muy sensible y específico; con él se identifican infecciones incipientes antes de que se produzcan los anticuerpos del paciente. Se ha recomendado el cribado universal en busca de VIH en adultos y adolescentes, y repetir las pruebas en embarazadas y en pacientes de alto riesgo, para aminorar en forma global la transmisión de VIH.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 47 años de edad recibió trasplante de médula ósea como parte del tratamiento para leucemia mielógena crónica. En su estancia en el hospital, tuvo colocado un catéter en una vena central, para la administración de soluciones. En el lapso que siguió al trasplante, pero antes de que éste fuera aceptado, el recuento de leucocitos de la paciente era muy bajo; tuvo fiebre y se realizaron hemocultivos. De las situaciones siguientes, ¿cuál sugiere que los hemocultivos positivos fueron consecuencia de la participación de un contaminante?
   (A) Dos cultivos positivos en sangre venosa periférica, con presencia de *Staphylococcus aureus*
   (B) Dos cultivos positivos en sangre venosa periférica, con participación de *Staphylococcus epidermidis*, dos cultivos de sangre del catéter central positivos y presencia de *Staphylococcus epidermidis*
   (C) Un cultivo de sangre venosa periférica y otro de sangre del catéter en vena central positivos, con presencia de *Escherichia coli*
   (D) Un hemocultivo positivo del catéter de la vena central, con presencia de una especie de *Corynebacterium* y dos cultivos negativos en sangre venosa periférica.
   (E) Dos cultivos positivos de sangre del catéter en vena central, con presencia de *Candida albicans.*
2. Dos días atrás, un joven de 22 años de edad volvió de un viaje de dos semanas a México. En un término de 24 h presentó diarrea. De los siguientes métodos, ¿cuál no establece la causa de la diarrea?
   (A) Cultivo de heces en busca de *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*
   (B) Cultivo de heces en busca de rotavirus y virus similar al de Norwalk
   (C) Enzimoinmunoanálisis de heces en busca de antígeno de *Giardia lamblia*
   (D) Estudio de heces en busca de *Entamoeba histolytica*
3. Un varón de 37 años de edad viajó a Perú durante una epidemia de cólera. Días después de volver a su hogar mostró diarrea acuosa intensa. Para mejorar la identificación de *Vibrio cholerae* de las heces, es necesario incluir, entre las pruebas de laboratorio:
   (A) Agar de MacConkey
   (B) Agar sangre para *Campylobacter*
   (C) Agar sacarosa con sales biliares y citrato de tiosulfato
   (D) Agar con sulfuro de bismuto
   (E) Agar de Hektoen
4. Desde algún tiempo atrás, se ha sabido que un varón de 42 años de vida tiene VIH-sida. De las técnicas siguientes, ¿cuál es la más adecuada para valorar la evolución de su tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART, *highly active antiretroviral therapy*)?:
   (A) Cuantificación de la carga viral
   (B) Medir de forma seriada las concentraciones de anticuerpos contra VIH-1
   (C) Utilizar inmunotransferencia para conocer las concentraciones de antígeno contra p24
   (D) Repetir el hemocultivo en busca de VIH-1 para identificar el momento en que el cultivo se tornó negativo
   (E) Emprender genotipificación de VIH-1 identificado para conocer su susceptibilidad a los antirretrovirus
5. Un niño de dos años de vida presenta diarrea. Se sospecha infección por rotavirus. De los siguientes métodos, ¿cuál es el más útil para diagnosticar la infección por ese virus?

(A) Tinción de la muestra de heces con anticuerpos fluorescentes
(B) Microscopia óptica para detectar células de mucosa con efecto citopático
(C) Detección del antígeno viral en heces por el método de enzimoinmunoanálisis
(D) Cultivo de virus

6. De las técnicas siguientes, ¿cuál es la adecuada para corroborar el diagnóstico etiológico de infección?
(A) Cultivo e identificación del agente
(B) Hibridación DNA-DNA o DNA-RNA para detectar genes específicos de microorganismos patógenos en las muestras de los pacientes
(C) Demostración de una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos o células, importante, contra un agente infeccioso
(D) Identificación morfológica del microorganismo en tinciones de muestras o cortes de tejidos por microscopia óptica o electrónica
(E) Detección de antígeno del agente causal por un método inmunitario
(F) Todas las anteriores

7. Una mujer de 45 años de edad es hospitalizada a causa de fiebre, pérdida de peso de 6 kg y un nuevo soplo cardiaco. Se diagnostica probable endocarditis. ¿Qué número de hemocultivos y en qué periodo deben realizarse para aportar pruebas de una infección bacteriana específica en la endocarditis?
(A) Una
(B) Dos en un lapso de 10 min
(C) Tres en un lapso de 2 h
(D) Tres en un lapso de 24 h
(E) Seis en un lapso de tres días

8. Un niño de cuatro años de edad manifiesta diarrea sanguinolenta y se sospecha colitis hemorrágica por *Escherichia coli* O157:H7. ¿Qué medio de laboratorio debe inocularse para que el personal diagnostique dicha infección?
(A) Agar sangre
(B) Agar sorbitol de MacConkey
(C) Agar de Hektoen entérico
(D) Agar CIN (cefsulodina, irgasan, novobiocina)
(E) Agar sacarosa con sales biliares y citrato de tiosulfato

9. Un varón de 43 años de vida de raza negra a menudo conducía su camión de 18 ruedas por el Valle Central de California. Dos meses antes se enfrentó a una gran tormenta de arena mientras manejaba por dicho valle. Dos semanas después, presentó fiebre con tos y un dolor pleurítico. En la radiografía de tórax, se identificó un infiltrado. Se hizo el diagnóstico de neumonía y el paciente recibió eritromicina. En un lapso de tres semanas, desaparecieron la fiebre, la tos, el dolor pleurítico y el infiltrado. Dos semanas antes de la consulta, manifestó cefalea intensa y, en los últimos dos días, vómito. El LCR contiene leucocitos a razón de 150/μl, sobre todo linfocitos, y la concentración de glucosa es baja. Se sospecha meningitis por *Coccidioides immitis*. De las pruebas siguientes, ¿cuál es la más sensible y útil para confirmar el diagnóstico?
(A) Aglutinación de látex para detectar anticuerpos contra coccidioides, en LCR
(B) Prueba de LCR en busca de anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
(C) PCR para DNA de *Coccidioides immitis*
(D) Cultivo de LCR en busca de *Coccidioides immitis*
(E) Prueba de fijación de complemento en el suero, en busca de anticuerpos contra *Coccidioides immitis*

10. Un paciente de cinco años de edad que ha recibido un trasplante de riñón y que ha sido tratado con ciclosporina, muestra un trastorno linfoproliferativo. De los virus siguientes, ¿cuál es el que muy probablemente causó el trastorno?
(A) Citomegalovirus
(B) Virus de herpes simple
(C) Coxsackievirus B
(D) Virus de hepatitis B
(E) Virus de Epstein-Barr

11. Todas las indicaciones siguientes son adecuadas para utilizar estudios serológicos en busca de virus, *excepto*:
(A) Como indicación de la susceptibilidad de la persona a una infección viral particular
(B) Para el diagnóstico cuando el virus tiene un periodo de incubación prolongado
(C) Con fines de detección
(D) Para confirmar la presencia de una infección por virus
(E) Para vigilar la respuesta al tratamiento

12. En el mes de agosto, un niño de dos años de edad fue llevado a los servicios clínicos, con un cuadro agudo que incluía fiebre, signos de cefalea, disminución de la agudeza mental y rigidez de cuello. En la exploración física, se confirmó la presencia de fiebre y de rigidez leve de la nuca; a pesar de estar irritable y con somnolencia mediana, pudo despertarse al niño para que bebiera algunos líquidos. En los parámetros del LCR, se observó una concentración de proteínas de 60 μg/100 ml, de glucosa de 40 μg/100 ml y un total de 200 leucocitos en que predominaban los mononucleares. La causa más probable de la infección del niño fue:
(A) Bacterias
(B) Virus
(C) Protozoos
(D) Hongos
(E) Micobacterias

13. En el caso anterior, el método más útil para hacer el diagnóstico más rápido y definitivo del agente causal más probable es:
(A) Un método para buscar el antígeno de *Streptococcus pneumoniae*
(B) Método de aglutinación de látex para detectar antígeno de criptococo
(C) Método de amplificación de ácido nucleico para detección de RNA viral
(D) Cultivo de medios selectivos en combinación con el uso de una sonda (molecular) para confirmación
(E) Frotis del LCR teñido con el método de Giemsa

14. Se prefiere el método de susceptibilidad con la técnica de MIC a diferencia de la difusión en disco, en todos los tipos siguientes de infecciones, *salvo en*:
(A) Infecciones de vías urinarias
(B) Endocarditis
(C) Osteomielitis
(D) Bacteriemia en un enfermo neutropénico
(E) Meningitis bacteriana

15. La vaginosis bacteriana se diagnostica mejor por cualquiera de los métodos siguientes, *excepto por*:
(A) Medición de pH vaginal
(B) Detección del olor a pescado cuando la secreción se alcaliniza con hidróxido de potasio
(C) Cultivo bacteriano en busca de aerobios y anaerobios
(D) Análisis de un frotis teñido con método de Gram de "células características de la vaginosis"

16. Varón de 45 años que acude al servicio de urgencias; durante los tres días anteriores tuvo tos productiva con expectoración

hemoptoica y fiebre. Al revisar la tinción de Gram del esputo se advirtieron innumerables leucocitos, y diplococos grampositivos. El microorganismo causal muy probablemente es:

(A) *Staphylococcus aureus*
(B) *Streptococcus pneumoniae*
(C) *Mycoplasma pneumoniae*
(D) *Klebsiella pneumoniae*

17. ¿Cuántos microorganismos deben estar presentes en una muestra de orina limpia obtenida de la mitad de la micción para considerarlos como equivalentes de una infección?

(A) $> 10^2$ CFU/ml
(B) $> 10^3$ CFU/ml
(C) $> 10^4$ CFU/ml
(D) $> 10^5$ CFU/ml

18. Los contaminantes que con más frecuencia se producen en hemocultivos incluyen:

(A) Bacilos gramnegativos
(B) Estafilococos coagulasa-negativos
(C) *Staphylococcus aureus*
(D) Anaerobios

19. De las muestras siguientes, ¿cuál no contiene anaerobios por lo general?

(A) Aspiración de un seno maxilar superior infectado
(B) Material faríngeo obtenido con aplicador de un paciente con faringitis
(C) LCR de una persona con meningitis
(D) Esputo expectorado de un individuo con neumonía extrahospitalaria

20. La proporción de bacterias resistentes a antibióticos ha aumentado con el uso cada vez más amplio de tales fármacos, situación que se debe al hecho de que ellos:

(A) Son inestables *in vivo*
(B) Actúan como agentes de selección en microorganismos resistentes
(C) Principalmente son bacteriostáticos *in vivo*
(D) Son mutágenos potentes

Respuestas

1. D	6. F	11. E	16. B
2. B	7. D	12. B	17. D
3. C	8. B	13. C	18. B
4. A	9. B	14. A	19. C
5. C	10. E	15. C	20. B

BIBLIOGRAFÍA

Baron EK, Miller JM, Weinstein MP, *et al.*: A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22–e121.

Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories: Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations. Available as http://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447. Published June 27, 2014.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (editors): *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 12a. ed. ASM Press, 2007.

Griffith BP, Campbell S, Caliendo AM: Human immunodeficiency viruses. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Nolte FS, Caliendo AM: Molecular microbiology. En Versalovic J, Carroll KC, Funke G, *et al.* (editors): *Manual of Clinical Microbiology*, 10a. ed. ASM Press, 2011.

Patel R: Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in clinical microbiology. *Clin Infect Dis* 2013;57:564–572.

Persing D, Tenover FC, Tang YW, *et al.* (editors): *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*, 2a. ed. ASM Press, 2011.

Winn W, Allen S, Janda W, *et al.* (editors): *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6a. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

CAPÍTULO

48

Casos y correlaciones clínicas

El tratamiento de las enfermedades infecciosas exige la comprensión de las manifestaciones clínicas iniciales y el conocimiento de las características microbiológicas. El cuadro de presentación de muchas infecciones incluye innumerables signos y síntomas focales y generales, y los casos típicos sugieren fuertemente el diagnóstico, aunque la enfermedad pudo haber sido causada por microorganismos diferentes. El arte de la medicina se funda en la elaboración del diagnóstico clínico que más tarde será confirmado por datos de laboratorio. El capítulo presente incluye 23 casos y comentarios breves del diagnóstico diferencial y el tratamiento de las infecciones.

Conviene que el lector consulte los primeros capítulos de este texto en busca de datos definitorios de los microorganismos; también el capítulo 47, para recabar información sobre las pruebas microbiológicas diagnósticas y revise obras de medicina e infectología para obtener información más completa de las entidades clínicas.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CASO 1: MENINGITIS

Una niña de tres años es llevada por sus padres al servicio de urgencias por presentar fiebre y falta de apetito en las últimas 24 h y dificultad para estar despierta, en las últimas 2 h. Los antecedentes de su desarrollo han sido normales desde su nacimiento; acudía a una guardería y mostró algunos episodios de supuestas infecciones virales similares a las de otros niños de la guardería. Sus vacunaciones estaban al corriente.

Manifestaciones clínicas

La temperatura de la paciente era de 39.5 °C, su pulso, de 130/lpm y frecuencia respiratoria de 24/min. Su presión arterial era de 110/60 mm Hg.

La exploración física mostró a una niña con desarrollo, nutrición, talla y peso normales, aunque somnolienta. Al intentar la flexión pasiva del cuello, sus piernas también se flexionaron (signo de Brudzinski positivo que sugiere irritación de las meninges). El estudio oftalmoscópico no indicó la presencia de papiledema, lo cual denota que durante largo tiempo no había presentado hipertensión intracraneal. Los demás datos de la exploración física fueron normales.

Datos de laboratorio

Minutos después de su llegada, se tomó una muestra de sangre para practicar cultivos y otras pruebas de laboratorio, y se colocó un catéter intravenoso. En menos de 30 min del ingreso al servicio de urgencias se practicó punción lumbar. La presión de abertura fue de 350 mm de líquido cefalorraquídeo (LCR) (elevada). El líquido estaba turbio. Se llenaron varios tubos de LCR para cultivo, recuento celular y pruebas químicas. Un tubo fue llevado inmediatamente a laboratorio para practicar tinción de Gram. Dicha técnica indicó la presencia de innumerables células polimorfonucleares (PMN, *polymorphonuclear cells*) con diplococos gramnegativos intracelulares que sugerían *Neisseria meningitidis* (capítulo 20).

Los datos de la química sanguínea fueron normales, al igual que el valor de hematocrito. El recuento de leucocitos fue de 25 000 células/μl (muy elevado) y 88% eran formas de PMN, y el número absoluto de tales células era de 22 000/μl (muy elevado), 6% de linfocitos y 6% de monocitos. En el LCR se detectaron 5 000 PMN/μl (cifra normal, 0 a 5 linfocitos/μl). La concentración de proteínas en LCR fue de 100 mg/100 ml (elevada) y el de glucosa, 15 mg/100 ml (disminución o hipoglucorraquia), datos compatibles con meningitis bacteriana. En los cultivos de sangre y líquido cefalorraquídeo se detectó la proliferación de *N. meningitidis* del serogrupo B.

Tratamiento

Se inició la administración de cefotaxima por vía intravenosa dentro de los primeros 35 a 40 min del ingreso de la paciente; también se le administró dexametasona. El paciente respondió con rapidez y se trató con el antibiótico durante siete días. Se recuperó sin secuelas palpables. Se planearon estudios neurológicos y pruebas de audiometría adicionales para el futuro. Se administró rifampicina como profiláctico a los demás niños que acudían a la guardería.

Comentarios

Las manifestaciones clínicas de la meningitis bacteriana varían según la edad de los pacientes. En los niños de mayor edad y en los adultos, los signos y síntomas iniciales suelen incluir fiebre, cefalea, vómito, fotofobia, alteración del estado mental que varía

apter 48_Carroll_4R.indd 773 15/04/16

desde la somnolencia hasta el coma, y signos neurológicos que van desde anormalidades de la función de los pares craneales, a convulsiones. Sin embargo, signos sutiles como fiebre y letargo son compatibles con la meningitis, en especial en los lactantes. Se considera que la inflamación es aguda si los signos y los síntomas duran menos de 24 h, y es subaguda cuando han estado presentes durante uno a siete días. Conviene practicar la punción lumbar y el estudio del líquido cefalorraquídeo siempre que surja alguna sospecha de meningitis.

La meningitis aguda suele ser causada por unas cuantas especies de bacterias (cuadro 48-1): estreptococos del serogrupo B de Lancefield (*Streptococcus agalactiae*) (capítulo 14) y por *Escherichia coli* (capítulo 15) en recién nacidos; *Haemophilus influenzae* (capítulo 18) en niños no vacunados de entre 6 meses, y 6 años de edad; *N. meningitidis* en niños y adolescentes no vacunados y adultos jóvenes; y *Streptococcus pneumoniae* (capítulo 14), ocasionalmente en niños, y con una incidencia cada vez mayor en personas en la etapa media de la vida y en los adultos de edad avanzada. Otras especies de microorganismos causan meningitis con frecuencia mucho menor. *Listeria monocytogenes* (capítulo 12) causa meningitis en pacientes inmunodeprimidos y en personas sanas. La levadura *Cryptococcus neoformans* (capítulo 45) es la causa más frecuente de meningitis en pacientes con sida y puede causarla también en otros enfermos inmunodeprimidos y en personas sanas. El comienzo de meningitis por *Listeria* o *Cryptococcus* puede ser agudo o insidioso. En sujetos con traumatismo craneoencefálico agudo, pacientes sometidos a neurocirugía y recién nacidos la meningitis es causada por bacilos gramnegativos (*E. coli* encapsulada). *S. pneumoniae* se detecta en la meningitis recurrente en personas con fracturas de la base del cráneo. La infección por *Mycobacterium tuberculosis* (capítulo 23) puede comenzar en forma lenta (crónica; > 7 días) en personas inmunológicamente sanas, pero el ritmo es más acelerado (forma subaguda) en individuos inmunodeprimidos, como los pacientes con sida. Las amebas de vida libre de la especie *Naegleria* (capítulo 46) a veces causan meningitis en individuos con el antecedente de haber nadado recientemente en agua dulce tibia. Los virus (capítulos 30, 33, 36) por lo común ocasionan meningitis menos grave, que las bacterias. Los virus que más a menudo causan la enfermedad son los enterovirus (virus ECHO y de Coxsackie) y el de la parotiditis.

El diagnóstico de meningitis necesita que el personal clínico sospeche fuertemente su presencia cuando observa los signos y los síntomas apropiados, además de practicar sin tardanza la punción lumbar y analizar el líquido cefalorraquídeo obtenido. Los signos en dicho líquido incluyen de manera típica cientos a miles de leucocitos por microlitro (PMN en el caso de meningitis bacteriana aguda y leucocitos en la meningitis tuberculosa y en la viral); glucosa < 40 mg/100 ml o menos de 50% de la glucemia; y proteína de > 100 mg/100 ml (cuadro 48-2). En la meningitis bacteriana, después de la citocentrifugación del LCR y de teñir su sedimento con técnica de Gram se identifican PMN y bacterias cuyas características morfológicas son congruentes con las especies que más adelante se cultivarán: *N. meningitidis*, diplococos gramnegativos intracelulares; *H. influenzae*, pequeños cocobacilos gramnegativos así como estreptococos del serogrupo B y neumococos, cocos grampositivos en pares y cadenas. Junto con los cultivos del LCR habrá que realizar hemocultivos.

La meningitis bacteriana aguda es mortal sin tratamiento. La terapia inicial en lactantes < 1 mes de edad suele consistir en fármacos parenterales que son eficaces contra los patógenos señalados en el cuadro 48-1, que incluyen *L. monocytogenes*. Se recomiendan las combinaciones de ampicilina y cefotaxima o ceftriaxona, con o sin la adición de gentamicina o ampicilina, en combinación con un aminoglucósido. En niños entre un mes a 18 años de edad y en adultos > 50 años, los antibióticos recomendados son vancomicina, y una cefalosporina de tercera generación por la prevalencia de *S. pneumoniae* multirresistente, informes de elevaciones de la concentración inhibidora mínima para la penicilina en los meningococos, y la prevalencia de la producción de lactamasa β en *H. influenzae*. Los adultos mayores de 50 años también son susceptibles al ataque por *L.*

CUADRO 48-1 Causas comunes de meningitis

Microorganismo	Grupo de edad	Comentarios	Capítulo
Estreptococo del serogrupo B (*S. agalactiae*)	Recién nacidos hasta niños de tres meses	Incluso 25% de las gestantes tienen en su vagina estreptococos del serogrupo B, como portadoras. La profilaxis con ampicilina durante el parto de mujeres expuestas a gran riesgo (rotura prolongada de membranas, fiebre, etc.) o de portadoras identificadas, disminuye la incidencia de la infección en los neonatos.	14
Escherichia coli	Recién nacidos	Por lo común tienen el antígeno K1.	15
Listeria monocytogenes	Recién nacidos; adultos de edad avanzada; niños y adultos inmunocomprometidos	Se le detecta en personas con deficiencias de la inmunidad celular.	12
Haemophilus influenzae	Niños de seis meses a cinco años	El empleo amplio de vacunas disminuye enormemente la incidencia de meningitis por *H. influenzae* en niños.	18
Neisseria meningitidis	De lactantes a niños de cinco años y adultos jóvenes	En zonas epidémicas y en casos de brotes se utilizaron vacunas de polisacáridos conjugados contra los serogrupos A, C, Y y W135.	20
Streptococcus pneumoniae	Todos los grupos de edad; su máxima incidencia se observa en adultos de edad avanzada	Suele aparecer en casos de neumonía y también en otros como mastoiditis, sinusitis y fracturas de la base del cráneo. La vacuna 13-valente está disponible	14
Cyptococcus neoformans	Pacientes con sida	Causa frecuente de meningitis en pacientes con sida	45

CUADRO 48-2 Signos típicos en el LCR, observados en algunas enfermedades del sistema nervioso central

Diagnóstico	Células (por µl)	Glucosa (mg/100 ml)	Proteínas (mg/100 ml)	Presión de abertura
Normal[a]	0 a 5 linfocitos	45 a 85	15 a 45	70 a 180 mm H_2O
Meningitis purulenta (bacteriana)[b]	200 a 20 000 PMN	Nivel bajo (< 45)	Nivel alto (> 50)	++++
Meningitis granulomatosa (por micobacterias u hongos)[b,c]	100 a 1 000 predominantemente linfocitos	Nivel bajo (< 45)	Nivel alto (> 50)	+++
Meningitis aséptica, viral o meningoencefalitis [c,d]	100 a 1 000 predominantemente linfocitos	Normal	Moderadamente alta (> 50)	Normal a +
Meningitis por espiroquetas (sífilis, leptospirosis)[c]	25 a 2 000, predominantemente linfocitos	Normal o nivel bajo	Nivel alto (> 50)	+
"Reacción de vecindad" [e]	Incremento variable	Normal	Normal o nivel alto	Variable

[a] Es importante considerar la concentración de glucosa en LCR en relación con la glucemia. En circunstancias normales la concentración de glucosa en LCR es 20 a 30 mg/100 ml menor que la glucemia o 50 a 70% del valor normal de esta última.

[b] Microorganismos en el frotis o cultivo de LCR.

[c] Pueden predominar los PMN en fase inicial.

[d] Aislamiento de virus en fase inicial en LCR; NAAT positivo; aumento de la concentración de anticuerpos en muestras emparejadas de suero.

[e] Puede observarse en mastoiditis, abscesos cerebrales, abscesos epidurales, sinusitis, trombosis séptica, tumor cerebral; el cultivo de LCR puede ser negativo.

monocytogenes y por ello se recomienda agregar ampicilina al régimen correspondiente a los niños de mayor edad y a los adultos, tal como se indica en párrafos anteriores.

Los datos disponibles respaldan la administración de dexametasona complementaria 10 a 20 min antes, o en forma simultánea, de la primera dosis del antimicrobiano en niños con meningitis por *H. influenzae* y en el adulto con meningitis neumocócica, y continuar la administración de esteroides en los primeros dos a cuatro días del tratamiento.

Se cuenta con varias vacunas y es recomendable su uso para evitar las causas más graves de meningitis bacteriana. Parte de las series de vacunación sistemática para lactantes y niños pequeños son la vacuna conjugada contra *H. influenzae* tipo B y vacuna conjugada 13-valente contra neumococo. Se recomienda usar la vacuna antineumocócica polisacárida 23-valente para evitar la enfermedad invasora por neumococos en algunos grupos de alto riesgo que tengan más de dos años de edad. En este grupo se incluyen adultos de edad avanzada y pacientes con enfermedades subyacentes crónicas como enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus, problemas pulmonares crónicos, fugas de LCR y asplenia, entre otras. En la actualidad se recomienda la inmunización con una de dos vacunas meningocócicas conjugadas tetravalentes, disponibles para todos los adolescentes sanos de 11 o 12 años de edad, con una dosis de refuerzo a la edad de 16 y para personas de dos a 55 años en riesgo, por ejemplo viajeros a zonas endémicas, pacientes asplénicos y pacientes con deficiencias del complemento. Para los adultos mayores de 55 años se recomienda usar la vacuna antimeningocócica polisacárida mientras se valora la vacuna conjugada en dicho grupo de edad.

REFERENCIAS

Brouwer MC, McIntyre P, Prasad K, Van de Beek D: Corticosteroids for acute bacterial meningitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; Jun 4;6:CD00440.

Kim KS: Acute bacterial meningitis in infants and children. *Lancet Infect Dis* 2010;10:32.

Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, *et al.*: Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004;39:1267.

Van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EF: Community acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med* 2006; 354:44.

CASO 2: ABSCESO CEREBRAL

Un varón de 57 años se presentó en el hospital con convulsiones. Tres semanas antes había mostrado cefaleas bifrontales que se aliviaron con ácido acetilsalicílico. Los dolores de cabeza reaparecieron varias veces, incluido el día anterior a la hospitalización. En la mañana en que fue internado, advirtió que tenía convulsiones focales con movimientos involuntarios de la hemicara derecha y el brazo del mismo lado. En el servicio de urgencias presentó una convulsión generalizada que fue controlada con diazepam, fenitoína y fenobarbital intravenosos. Los antecedentes adicionales que aportó la esposa del enfermo señalaron que cinco semanas antes se le había extraído una pieza dental y se le reparó un puente odontológico. No fumaba, su consumo de bebidas alcohólicas era de tipo social y no ingería medicamentos. Los demás datos de sus antecedentes no eran útiles.

Manifestaciones clínicas

La temperatura del paciente fue de 37 °C, su pulso, de 110/lpm y 18 rpm. Su presión arterial fue de 140/80 mmHg.

En la exploración física se observó que el paciente estaba somnoliento y su atención había disminuido. Movía todas sus extremidades, aunque el movimiento de su brazo derecho era

menor que el del izquierdo. Se observó la papila izquierda ligeramente borrosa, lo cual sugirió la posibilidad de hipertensión intracraneal. Los demás datos de su exploración física fueron normales.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

Los resultados de laboratorio fueron todos normales, incluidos la hemoglobina y el hematocrito, recuento de leucocitos y diferencial, los electrólitos séricos, el nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina sérica, los análisis de orina, la radiografía de tórax y el electrocardiograma. No se practicó punción lumbar ni se estudió el LCR ante la posibilidad de hipertensión intracraneal por una lesión ocupativa. Los hemocultivos fueron negativos. La tomografía computarizada (CT) con amplificación del contraste, indicó la presencia en la cabeza del paciente de una lesión localizada de 1.5 cm anular con borde realzado en el hemisferio parietal izquierdo, sugestiva de un absceso cerebral.

Tratamiento

El paciente se sometió a un procedimiento de neurocirugía con drenaje de la lesión. En el cultivo del material necrótico obtenido de ella se identificaron *Prevotella melaninogenica* (capítulo 21) y *Streptococcus anginosus* (capítulo 14). El estudio patológico del tejido sugirió que la lesión tenía algunas semanas de evolución. Durante seis semanas se administró antibioticoterapia y cesaron las convulsiones y no hubo déficit neurológico subsiguiente. Un año más tarde se interrumpió el uso de los anticonvulsivos y una tomografía computarizada de seguimiento fue negativa.

Comentarios

Un absceso cerebral es una infección por bacterias piógenas, localizada dentro del parénquima cerebral. Sus principales manifestaciones clínicas dependen de que exista una masa ocupativa en el cerebro y no de los signos y síntomas clásicos de infección. Por lo comentado, las manifestaciones suelen ser cefalea y cambio en el estado mental de una situación normal a otra de letargo o coma. En menos de la mitad de los pacientes aparecen signos neurológicos focales relacionados con el sitio en que está el absceso; 33% de los pacientes muestra convulsiones, y menos de la mitad, tiene fiebre. A veces el cuadro inicial incluye signos y síntomas que sugieren meningitis aguda. En el comienzo, el clínico debe diferenciar el absceso cerebral de otros cuadros del sistema nervioso central que incluyen cánceres primarios o metastásicos, abscesos subdurales o epidurales, meningitis, accidente cerebrovascular y otras enfermedades.

Entre los factores predisponentes importantes para que surja un absceso cerebral están las infecciones distantes con bacteriemia, como endocarditis, infecciones pulmonares y otras ocultas. El absceso cerebral también puede presentarse por diseminación desde sitios de infección contagiosos, por ejemplo, el oído medio, mastoides, senos, por infecciones dentales o trabajo dental reciente. La interrupción de barreras protectoras como en el caso de neurocirugía o después de traumatismo penetrante es otro factor. Por último, también son importantes los inmunodepresores o estados de inmunocompromiso como la infección por VIH. Sin embargo, 20% de sujetos con abscesos cerebrales no tiene factores predisponentes identificables.

El absceso cerebral puede ser causado por una sola especie de bacterias, pero más a menudo las infecciones son polimicrobianas. De las bacterias facultativas y aerobias, las más frecuentes que se detectan en 33 a 50% de los pacientes, son los estreptococos viridans (incluidas las cepas hemolíticas α y β y las no hemolíticas, el grupo *S. anginosus*, *Streptococcus mitis*, etc., capítulo 14). En 10 a 15% de los casos se aísla *Staphylococcus aureus* (capítulo 13) y al aparecer suele ser el único microorganismo que se identifica. En aproximadamente 25% de los enfermos se detectan bacilos intestinales gramnegativos, a menudo en cultivos mixtos. En los abscesos cerebrales también se identifican muchas otras bacterias facultativas o aerobias como *S. pneumoniae,* especies de *Nocardia*, *M. tuberculosis* y micobacterias no tuberculosas. En la mitad o más de los pacientes se detectan bacterias anaerobias (capítulo 21). Las más comunes son *Peptostreptococcus* y le siguen en frecuencia especies de *Bacteroides* y *Prevotella*. Con menor frecuencia se identifican *Fusobacterium, Actinomyces* y *Eubacterium* y le siguen en ese orden otros anaerobios. Los hongos (capítulo 45) aparecen casi exclusivamente en pacientes inmunocomprometidos. Las especies de *Candida* son los hongos más prevalentes, pero también se detectan con frecuencia cada vez mayor hongos oportunistas como especies de *Aspergillus* y *Scedosporium apiospermum*. También pueden causar abscesos cerebrales hongos dimórficos como *Coccidioides immitis*. Un patógeno importante en enfermos de sida es *C. neoformans.* Entre los parásitos (capítulo 46) que ocasionan abscesos cerebrales están *Toxoplasma gondii*, que es el protozoo más frecuente, particularmente en enfermos de sida, neurocisticercosis (forma larvaria de *Taenia solium*), *Entamoeba histolytica,* especies de *Schistosoma,* y *Paragonimus*.

La punción lumbar para extraer LCR por lo común no está indicada en personas con un absceso cerebral (o si hay otras lesiones ocupativas en el cerebro) porque la hipertensión intracraneal hace que tal método pueda ser letal, ante la posibilidad de hernia cerebral a través de la tienda del cerebelo, y como resultado surja compresión del mesencéfalo. Los hallazgos en el LCR son inespecíficos del absceso cerebral: a menudo se detectan leucocitos, predominantemente mononucleares; la concentración de glucosa puede disminuir moderadamente y aumentar la concentración de proteínas; por todo lo comentado, si no surgen fiebre y signos que sugieran meningitis aguda y se sospecha la presencia de un absceso cerebral, el médico debe ordenar la práctica de una CT con amplificación de contraste. De manera típica el absceso cerebral muestra captación del material radiopaco, en la CT, con una zona anular de borde realzado, aunque se identifican a veces signos similares en individuos con tumores cerebrales y otras enfermedades. Las imágenes por resonancia magnética (MRI, *magnetic resonance imaging*) pueden ser útiles para diferenciar entre abscesos cerebrales y tumores. La diferenciación definitiva entre ellos se hace por el estudio patológico y el cultivo del tejido de la lesión, obtenido por medio de un método neuroquirúrgico.

El pronóstico de los abscesos cerebrales sin tratamiento, es letal. La extirpación quirúrgica constituye la terapia inicial, así como el diagnóstico del absceso. En vez de la extirpación puede hacerse aspiración con una aguja, por medio de una técnica estereotáctica. Se deben administrar antibióticos por vía parenteral y deben incluir dosis altas de penicilina G contra estreptococos y muchos anaerobios, metronidazol contra anaerobios resistentes

a la penicilina G y además una cefalosporina de tercera generación para combatir los bacilos intestinales gramnegativos. En la terapia inicial habrá que incluir vancomicina u otro fármaco específico contra *S. aureus* si la persona tiene endocarditis, si se ha identificado bacteriemia por estafilococos, o si se detectan éstos en el absceso. La terapia inicial con antibióticos en vez de la cirugía puede emprenderse en algunos enfermos si sus abscesos cerebrales son pequeños (< 2 cm), son múltiples o es difícil abordarlos quirúrgicamente, pero el deterioro de las funciones neurológicas denota la necesidad de operar. Una vez que se tienen los resultados del cultivo del material del absceso se debe modificar la antibioticoterapia inicial para que sea específica contra las bacterias, hongos o parásitos identificados en la lesión. La antibioticoterapia debe continuarse durante tres a cuatro semanas, como mínimo, si se practica la extirpación quirúrgica, o por ocho semanas o más si no se realizó dicho método. Las causas no bacterianas del absceso cerebral por lo común obligan a plantear diagnósticos definitivos y tratamientos específicos. Los corticosteroides para disminuir el edema sólo se deben usar cuando hay un efecto de masa ocupativa.

REFERENCIAS

Bernardini GL: Diagnosis and management of brain abscess and subdural empyema. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2004;4:448.

Brouwer MC, Tunkel AR, McKhann II GM, Van de Beek D. Brain abscess. *N Engl J Med* 2014;371:447-456.

Tunkel AR: Brain abscess. En Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 8a. ed. Philadelphia, Elsevier, 2015.

Yogev R, Bar-Meir M: Management of brain abscesses in children. *Pediatr Infect Dis* 2004;23:157.

APARATO RESPIRATORIO

CASO 3: NEUMONÍA BACTERIANA

Un varón de 35 años acudió al servicio de urgencias por tener fiebre y dolor en hemitórax izquierdo cuando tosía. Cinco días antes había presentado signos de una infección viral en la vía respiratoria superior, con faringitis, rinorrea e intensificación de tos. El día anterior a la consulta médica presentó dolor en hemitórax izquierdo cuando tosía o respiraba profundamente. Doce horas antes de acudir al servicio de urgencias, despertó con un escalofrío intenso y sudoración profusa. La anamnesis posterior indicó que ingería cantidades moderadas a abundantes de bebidas alcohólicas y durante 17 años fumó todos los días una cajetilla de cigarrillos. Trabajaba en un taller de reparación de automóviles y había tenido dos hospitalizaciones, una cuatro años antes por un síndrome de abstinencia.

Manifestaciones clínicas

La temperatura era de 39 °C, el pulso de 130/lpm y 28 rpm. Su presión arterial era de 120/80 mmHg.

En la exploración física se observó que era un varón con moderado sobrepeso que tosía frecuentemente y que sostenía el hemitórax izquierdo al toser. Expulsaba muy escaso esputo espeso de color herrumbroso. La exploración del tórax indicó movimientos normales del diafragma. Al percutir la zona posterolateral del hemitórax afectado se advirtió matidez, lo cual sugería consolidación pulmonar. En la misma área se percibía ruidos respiratorios tubulares (bronquiales), junto con sonidos crepitantes (estertores), secos compatibles con consolidación pulmonar y presencia de moco viscoso en las vías respiratorias. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

En la radiografía del tórax se detectó una zona de consolidación densa en el lóbulo inferior izquierdo, compatible con neumonía bacteriana. El hematocrito fue de 45% (normal). El recuento de leucocitos fue de 16 000 células/μl (muy elevado), con 80% de PMN, con un recuento absoluto de estos de 12 800/μl (muy elevado), 12% de linfocitos y 8% de monocitos. Los datos de la química sanguínea, incluidos electrólitos, fueron normales. El esputo era espeso, de color amarillento a herrumbroso, y aspecto purulento. La tinción de Gram de dicho material indicó abundancia de PMN y diplococos grampositivos en forma de lanceta. En los cultivos se identificó *S. pneumoniae* (capítulo 14) 24 h más tarde. En los cultivos de esputo proliferaron innumerables *S. pneumoniae* y unas cuantas colonias de *H. influenzae* (capítulo 18).

Tratamiento

El diagnóstico inicial fue de neumonía bacteriana, probablemente por neumococos. El tratamiento con penicilina G acuosa parenteral comenzó con base en datos locales que mostraron poca resistencia de los neumococos a la penicilina y al paciente se le administraron líquidos parenterales. En un plazo de 48 h la

CASO 4: NEUMONÍA VIRAL

Un varón de 31 años acudió al médico y le señaló que tenía erupción cutánea, tos y disnea. Cuatro días antes comenzó a sentirse mal y presentó fiebre de 38 °C. Al día siguiente le apareció una erupción cutánea que tenía inicialmente el aspecto de "ronchas", pero pronto se convirtieron en vesículas. Más tarde aparecieron algunos brotes de lesiones cutáneas muy pruriginosas. Dos horas antes de su hospitalización sintió dolor en el hemitórax derecho cuando respiraba en forma profunda o tosía.

Dos semanas antes de la hospitalización, su hija de ocho años tuvo varicela (capítulo 33), y él participó en su cuidado. No sabía si de niño había tenido dicha enfermedad.

temperatura se normalizó y expulsó por tos grandes cantidades de esputo purulento. La administración de penicilina G se continuó durante siete días. En la revisión de seguimiento cuatro semanas después de su hospitalización había cedido la consolidación pulmonar.

Manifestaciones clínicas

La temperatura fue de 39 °C, el pulso de 110/lpm y tuvo 30 rpm. Su presión arterial fue de 115/70 mmHg. El paciente parecía muy incómodo. Tenía una erupción cutánea que consistió en brotes o fases múltiples de lesiones que variaban desde maculopápulas rojas hasta vesículas que se habían roto y formado costras. Los dedos de las manos y sus labios mostraban una leve cianosis. Se percibieron estertores en los campos pulmonares de ambos lados. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

En las radiografías de tórax se observaron infiltrados pulmonares intersticiales difusos bilaterales. Los gases en sangre arterial incluyeron PO_2 de 60 mmHg con una saturación de hemoglobina de 91%. Se observaron resultados normales en el hematocrito, en el recuento de leucocitos, en los electrólitos en suero y en los estudios de función hepática.

Tratamiento y evolución hospitalaria

El sujeto fue hospitalizado y se le sometió a oxigenoterapia, con la cual mejoró su hipoxia. Por vía endovenosa se administraron grandes dosis de aciclovir. En los días siguientes mejoró su función respiratoria y para el sexto día se interrumpió la administración de oxígeno. El tercer día se cambió a aciclovir por vía oral y se continuó su administración durante 10 días en total. Al séptimo día se dio de alta al paciente para ser atendido en su hogar.

Comentario

La **neumonía bacteriana aguda** por lo común comienza con un cuadro repentino de escalofríos y fiebre, tos y a menudo **dolor torácico pleurítico**. La tos frecuentemente es productiva y genera **esputo purulento** y muchos sujetos con neumonía no están hidratados de manera adecuada por lo cual no generan esputo hasta que reciben soluciones, como ocurrió en este caso. Aparece dolor torácico pleurítico cuando el cuadro inflamatorio de la neumonía afecta las pleuras del pulmón y de la cavidad torácica; el desplazamiento de ambas capas, como sucede con la tos o la respiración profunda, ocasiona dolor localizado. Los sujetos con neumonía aguda tienen un aspecto enfermo y por lo común tienen taquipnea (respiración rápida) y taquicardia (frecuencia cardiaca elevada). Muchos individuos con la enfermedad tienen factores predisponentes (insuficiencia cardiaca congestiva, neumopatía obstructiva crónica y otros trastornos) que se exacerban antes de aparecer la neumonía al mismo tiempo.

Los signos en la exploración física son los que se observan en la **consolidación del tejido pulmonar**, que son moco purulento (**esputo**) en las vías respiratorias, y en algunos enfermos, líquido en la cavidad torácica. En la percusión se advierte matidez en el área de consolidación (o líquido). Al ocurrir esta última se cierran bronquiolos y alvéolos y únicamente las grandes vías respiratorias quedan abiertas; en la auscultación, se perciben ruidos tubulares en la zona. Si todas las vías respiratorias están bloqueadas, no se escuchan ruidos respiratorios. La detección de estertores secos o ruidos crepitantes en la auscultación denota la presencia de líquido o moco en las vías respiratorias; estos ruidos a veces cambian cuando la persona tose.

La **neumonía viral** se caracteriza por inflamación intersticial del tejido pulmonar y la formación de membranas hialinas en los espacios alveolares, y suele acompañar a la bronquiolitis y el desprendimiento de células ciliadas de las vías respiratorias pequeñas, con inflamación peribronquial. Los virus que causan neumonía más a menudo son: el sincicial respiratorio, los de parainfluenza (por lo general el tipo 3), el de influenza, los adenovirus, el de sarampión y el de varicela-zóster (capítulos 32, 39 y 40). El citomegalovirus (capítulo 33) causa neumonía en personas que han recibido trasplante alógeno de médula ósea y trasplante de órgano sólido; en ellos el virus de varicela-zóster puede ocasionar dicho cuadro. Los virus patógenos de reciente identificación como Metapneumovirus y algunos Coronavirus recién descubiertos como MERS-Coronavirus (caso 23) pueden causar enfermedad muy similar a la que originan los virus patógenos más comunes de vías respiratorias (capítulos 40, 41). El Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS, *severe acute respiratory syndrome*) fue el que causó la epidemia de neumopatía mortal en varios países (caso 20). Otros agentes infecciosos (y no infecciosos también) causan neumonitis intersticial con consolidación focal del pulmón o sin ella; entre los ejemplos están *Legionella pneumophila* (capítulo 22) *Mycoplasma pneumoniae* (capítulo 25) y *Pneumocystis jiroveci* (capítulo 45). Los signos físicos en la exploración del tórax en casos de neumonía viral a menudo son escasos y sólo se perciben estertores en la auscultación. Algunos de los virus ocasionan erupciones características que a veces orientan en el diagnóstico. En las radiografías de tórax se observan infiltrados intersticiales difusos bilaterales; puede haber áreas focales de consolidación. Son importantes las medidas complementarias como la oxigenoterapia y el uso de antivirales específicos, en la medida de lo posible.

La **neumonía extrahospitalaria** (*community acquired pneumonia,* CAP) se define como una infección aguda de los pulmones en personas no hospitalizadas en fecha reciente o expuestas de otra manera a una instalación de atención sanitaria. Las causas más comunes de CAP son *P. pneumoniae* (capítulo 14), *H. influenzae* (capítulo 18), *Moraxella catarrhalis* (capítulo 16), *S. aureus* (capítulo 13) y con menor frecuencia ciertos bacilos gramnegativos, mismas que se observan con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad pulmonar crónica. Datos sobre la frecuencia de patógenos "atípicos", a saber *M. pneumoniae* (capítulo 25), *L. pneumophila* (capítulo 22) y *Chlamydia pneumoniae* (capítulo 27) varía (cuadro 48-3) pero deben considerarse cuando se escogen esquemas de tratamiento empíricos; las infecciones pleurales pulmonares con bacterias anaeróbicas mezcladas se asocian con factores predisponentes, por ejemplo enfermedad periodontal, crisis convulsivas, estupor o coma y aspiración de bacterias orofaríngeas en el pulmón. Neumonía, abscesos pulmonares e infección del espacio pleural (empiema, o pus en la cavidad torácica) tienen lugar con infecciones anaerobias mixtas.

La **neumonía asociada con cuidado de la salud** (*health care-associated pneumonia*, HCAP) es una categoría de infección creada en 2005 para distinguir personas en la comunidad con hospitalización reciente, que residen en instalaciones de

CUADRO 48-3 Características y tratamientos de algunas neumonías selectas

Microorganismo	Entorno clínico	Frotis de esputo teñidos con método de Gram	Radiografías de tórax[a]	Estudios de laboratorio	Complicaciones	Tratamiento antimicrobiano preferido[b]	Capítulo
Streptococcus pneumoniae	Enfermedades cardiopulmonares crónicas; aparece después de infecciones de vías respiratorias superiores	Diplococos grampositivos	Consolidación lobar	Frotis de esputo teñido con método de Gram; hemocultivo, cultivo de líquido pleural y búsqueda de antígeno en orina	Bacteriemia, meningitis, endocarditis, pericarditis, empiema	Penicilina G (o V, oral); fluoroquinolonas o vancomicina en caso de microorganismos muy resistentes a la penicilina	14
Haemophilus influenzae	Enfermedades cardiopulmonares crónicas; surge después de infecciones de vías respiratorias superiores	Cocobacilos gramnegativos pequeños	Consolidación lobar	Cultivo de esputo, sangre o líquido pleural	Empiema, endocarditis	Ampicilina (o amoxicilina) si el microorganismo es lactamasa negativo; cefotaxima, o ceftriaxona.	18
Staphylococcus aureus	Epidemias de influenza; intrahospitalaria	Cocos grampositivos en cúmulos	Infiltrados irregulares	Cultivo de esputo, sangre o líquido pleural	Empiema, cavitación	Nafcilina[c]	13
Klebsiella pneumoniae	Abuso de alcohol; diabetes mellitus, intrahospitalaria	Bacilos encapsulados gramnegativos	Consolidación lobar	Cultivo de esputo, sangre y líquido pleural	Cavitación, empiema	Una cefalosporina de tercera o cuarta generación; en caso de infección grave[d], agregar gentamicina o tobramicina	15
Escherichia coli	Intrahospitalaria; sólo en raras ocasiones, extrahospitalaria	Bacilos gramnegativos	Infiltrados irregulares y derrame pleural	Cultivo de esputo, sangre y líquido pleural	Empiema	Una cefalosporina[d] de tercera generación	15
Pseudomonas aeruginosa	Iintrahospitalaria; fibrosis quística	Bacilos gramnegativos	Infiltrados irregulares, cavitación	Cultivo de esputo, sangre	Cavitación	Una cefalosporina, o un carbapenémico contra pseudomonas o una combinación de un lactámico β/inhibidor de lactamasa β como piperacilina/tazobactam y además un aminoglucósido	16
Anaerobios	Broncoaspiración, periodontitis	Flora mixta	Infiltrados irregulares en zonas dependientes del pulmón	Cultivo del líquido pleural o de material obtenido por aspiración transtorácica; broncoscopia con un aplicador protegido para muestras	Neumonía necrosante, absceso o empiema	Clindamicina	11,20, 48
Mycoplasma pneumoniae	Adultos jóvenes; ataca en verano y otoño	PMN y monocitos; no se detectan bacterias patógenas	Infiltrados irregulares extensos	Títulos de fijación de complemento[e], los títulos de crioaglutinina sérica no son útiles porque no poseen sensibilidad ni especificidad; PCR	Erupciones cutáneas, miringitis ampollosa, anemia hemolítica	Eritromicina, azitromicina o claritromicina; doxiciclina o fluoroquinolonas	25

(*continúa*)

CUADRO 48-3 Características y tratamientos de algunas neumonías selectas (*continuación*)

Microorganismo	Entorno clínico	Frotis de esputo teñidos con método de Gram	Radiografías de tórax[a]	Estudios de laboratorio	Complicaciones	Tratamiento antimicrobiano preferido[b]	Capítulo
Especies de *Legionella*	Ataca en verano y otoño; exposición a sitios en construcción, fuentes de agua, acondicionadores de aire, contaminados; extrahospitalaria o intrahospitalaria	Pocos PMN; no hay bacterias	Consolidación irregular o lobar	Título de anticuerpos inmunofluorescentes[e]; cultivo de esputo o tejido[f]; antígeno de *Legionella* en orina (*L. pneumophila* serogrupo 1 solamente); PCR	Empiema, cavitación, endocarditis y pericarditis	Azitromicina o claritromicina, con rifampicina o sin ella; fluoroquinolonas	22
Chlamydophila pneumoniae	Semejanza clínica con la neumonía por *M. pneumoniae*, pero los síntomas prodrómicos duran más (incluso dos semanas); es frecuente que haya faringitis y ronquera en adolescentes y adultos jóvenes.	Inespecíficos	Infiltrado subsegmentario menos notable que en el caso de la neumonía por *M. pneumoniae*; es rara la consolidación	Aislamiento muy difícil; la técnica recomendada es la microinmunofluorescencia	La reinfección en adultos mayores que tienen como trastorno básico EPOC o insuficiencia cardiaca puede ser grave o incluso mortal	Doxiciclina, eritromicina, claritromicina, o fluoroquinolonas	27
Moraxella catarrhalis	Neumopatías preexistentes; senectud, administración de corticosteroides o inmunodepresores	Diplococos gramnegativos	Infiltrados irregulares; a veces consolidación lobar	Tinción de Gram en cultivos de esputo o material de aspiración bronquial	Raras ocasiones, derrames pleurales y bacteriemia	Trimetroprim/sulfametoxazol o ácido clavulánico-amoxicilina, o cefalosporinas de la segunda o tercera generación	20
Pneumocystis jiroveci	Sida, terapia inmunodepresora	No es útil en el diagnóstico	Infiltrados intersticiales y alveolares y difusos; infiltrados apicales o del lóbulo superior, con la pentamidina en aerosol	Quistes y trofozoítos de *P. jiroveci* con las tinciones de metenamina argéntica o de Giemsa, hechas en esputo o líquido de BAL; anticuerpos inmunofluorescentes directos en líquido BAL	Neumotórax, insuficiencia respiratoria, ARDS, muerte	Trimetroprim/sulfametoxazol, isetionato de pentamidina	45

[a] Los signos radiográficos son inespecíficos

[b] Los métodos de susceptibilidad microbiana (antibioticogramas) deben orientar el tratamiento

[c] Las infecciones por *S. aureus* resistente a nafcilina se tratan con vancomicina

[d] El tratamiento se puede complicar por la presencia de microorganismos que producen lactamasa β de espectro extendido, y también los que producen carbapenemasa

[e] Confirma el diagnóstico la concentración cuatro veces mayor

[f] Se necesitan medios selectivos

apter 48_Carroll_4R.indd 780 15/04/16

cuidado de largo plazo, o quienes a menudo tienen exposición a ambientes de cuidado de la salud (p. ej., clínicas de hemodiálisis y quienes están en riesgo de adquirir los mismos tipos de patógenos resistentes a múltiples fármacos que se ven entre pacientes hospitalizados [HAP] y pacientes que están en apoyo con ventilador [VAP]). Los microorganismos que causan tales infecciones son diferentes por completo de las etiologías de CAP. HCAP, HAP, y VAP que suelen ser causadas por bacilos intestinales gramnegativos multirresistentes como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae,* especies de *Enterobacter* (capítulo 15), *Pseudomonas aeruginosa* (capítulo 16) y *S. aureus* (capítulo 13), y también *Legionella* puede ocasionar la neumonía adquirida en hospitales. Los hongos, que incluyen *Histoplasma capsulatum, C. immitis,* y *C. neoformans* (capítulo 45), causan **CAP**; existe mayor posibilidad de que especies de *Candida* y *Aspergillus* (capítulo 45) causen infecciones intrahospitalarias.

La biometría hemática de personas con neumonía por lo común indica la presencia de leucocitosis, con incremento en el número de PMN. En la radiografía de tórax se advierten infiltrados segmentarios o lobares. A veces se identifican cavidades, en particular en el caso de infecciones anaerobias mixtas o neumonía por *S. aureus* o estreptococos del grupo A. También se pueden detectar derrames pleurales y, en caso de surgir, obligan a practicar toracocentesis y así obtener líquido para recuento y cultivo celulares; y para propósitos terapéuticos en caso de empiema. Los cultivos de sangre deberían hacerse en todo paciente ingresado al hospital con neumonía aguda, aun cuando el rendimiento varíe (p. ej., 20 a 25% con *S. pneumoniae*, mucho menos en enfermedad causada por *H. influenzae*). El esputo, cuando se encuentre disponible, también puede ser útil para tinción de Gram y cultivo.

Muchos enfermos de neumonía bacteriana, y otros más con el mismo cuadro causado por otros microorganismos, muestran esputo mucopurulento. El esputo de color herrumbroso sugiere ataque alveolar y se asocia con la neumonía neumocócica, aunque surge con otros microorganismos también. El esputo fétido sugiere infección con anaerobios mixtos. Es importante separar una fracción purulenta del esputo para en ella hacer tinción de Gram y estudio microscópico; la muestra adecuada de esputo debe tener más de 25 PMN y menos de 10 células epiteliales en el campo de baja potencia (amplificación 100×). Por costumbre, el estudio microscópico del esputo se ha utilizado para identificar la causa de la neumonía; sin embargo, es difícil a veces diferenciar los microorganismos que son parte de la microbiota normal de la bucofaringe, de los que causan la neumonía. Detectar innumerables diplococos grampositivos en forma de lanceta sugiere en gran medida la presencia de *S. neumoniae*, pero los estreptococos que son parte de la microbiota de la boca y la faringe tienen el mismo aspecto. La utilidad principal de la tinción del frotis de esputo es el caso en que se detectan microorganismos no esperados (como innumerables PMN junto con abundantes bacilos gramnegativos, que sugieren bacilos intestinales o *Pseudomonas* o incontables cocos grampositivos en racimos que sugieren estafilococos). Los cultivos de esputo comparten muchas de las desventajas de los frotis, pues con ellos es difícil diferenciar entre la microbiota normal y las bacterias colonizantes, de las que causan la neumonía.

La demostración real de la causa de la neumonía se obtiene de un conjunto limitado de muestras: la positividad de un hemocultivo en un sujeto con neumonía sin infecciones confusoras; la positividad del líquido pleural o del cultivo directo del aspirado pulmonar; y la detección del antígeno circulante de un microorganismo específico sin alguna infección confusora (como el caso del antígeno urinario de *S. pneumoniae* o *L. pneumophila*). La broncoscopia suele practicarse para obtener material para estudios diagnósticos en pacientes con neumonía en estado muy grave; también se recomienda en casos de neumonía en profesionales de la salud y la que se observa en el hospedador inmunocomprometido. Es útil el cultivo bacteriano cuantitativo realizado en una muestra de lavado broncoalveolar (BAL, *bronchoalveolar lavage*) obtenida con gran cuidado y con el uso de una cifra límite de 10^4 unidades formadoras de colonias (CFU, *colony-forming units*)/ml de un patógeno específico por muestra, como punto de corte para que tenga significación clínica y para establecer la etiología de la neumonía bacteriana en individuos que no habían sido tratados con antibióticos. La broncoscopia junto con el BAL también puede permitir que se identifique un patógeno no bacteriano como un moho filamentoso o un virus patógeno en un sujeto expuesto a riesgos.

Ahora se dispone de múltiples métodos comerciales de amplificación de ácido nucleico para apoyar el diagnóstico de neumonía viral y neumonía causada por patógenos atípicos, por ejemplo *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae.* Se están desarrollando otras plataformas específicamente para detectar CAP y HCAP.

En Estados Unidos, algunas sociedades profesionales (véanse abajo lineamientos para ATS e IDSA) han establecido guías prácticas para el diagnóstico y el tratamiento empírico y definitivo de neumonías extrahospitalaria, la vinculada con la atención de la salud y la neumonía relacionada con el respirador. En el caso de pacientes que tienen neumonía extrahospitalaria se recomienda como fármaco único un macrólido, una fluoroquinolona o doxociclina si antes de su ingreso en el hospital gozaban de buena salud. Se recomienda como tratamiento empírico inicial un macrólido con un lactámico β o una fluoroquinolona sola en pacientes ambulatorios en quienes existe el problema resistencia y en otros que necesitan hospitalización. Una actualización realizada por Musher *et al*., (véase en referencias) sugiere modificaciones a los lineamientos para tratamiento de pacientes ambulatorios debido al aumento de resistencia a macrólido y tetracilina en microorganismos comunes de CAP. En resumen, la amoxicilina-clavulanato con la adición de azitromicina, si se trata de infección por *Legionella*, se sugiere para pacientes ambulatorios. También se recomienda que fluoroquinolonas, por ejemplo levofloxacina o moxifloxacina se reserven para pacientes con predisposición a enfermedad pulmonar u otras comorbilidades. Los regímenes mencionados habrán de modificarse en el caso de que se establezca la etiología y una vez que se precise la susceptibilidad del agente causal. En el caso de neumonías hospitalaria o la vinculada con la atención de la salud, un problema grave es la multirresistencia, y se necesita a veces tratamiento personalizado contra pseudomonas, que incluya cefalosporinas de tercera generación, carbapenémicos o combinaciones de inhibidores de β-lactamasa/lactámicos junto con, o sin, un aminoglucósido. En fecha más reciente, el aumento de la prevalencia de microorganismos resistentes a múltiples fármacos, como *K. pneumoniae* resistente a carbapenem y *Acinetobacter baumannii* resistente a todos los antimicrobianos, excepto

colistina, ha desafiado tales recomendaciones y contribuido a mortalidad creciente.

REFERENCIAS

American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388.

Anand N, Kolleff MH: The alphabet soup of pneumonia: CAP, HAP, HCAP, NHAP, and VAP. *Semin Respir Crit Care Med* 2009;30:3.

Labelle A, Kollef MH: Healthcare-associated pneumonia: approach to management. *Clin Chest Med* 2011;32:507-515.

Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, *et al.*: Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44:527.

Musher DM, Thorner AR: Community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 2014;371:17.

CORAZÓN

CASO 5: ENDOCARDITIS

Mujer de 45 años que fue hospitalizada por mostrar fiebre, disnea y pérdida de peso. Seis semanas antes de su internamiento mostró escalofríos, sudoración profusa y anorexia, manifestaciones que agravaron hasta la hospitalización. Cuatro semanas antes de su internamiento presentó dorsalgia persistente. La disnea con el ejercicio se agravó y en vez de caminar tres cuadras, podía caminar sólo una. Al momento de su hospitalización señaló haber perdido 5 kg.

En su niñez se le diagnosticó fiebre reumática, y en esa época mostró hinchazón de articulaciones y fiebre y estuvo en reposo absoluto durante tres meses. Más tarde se le detectó un soplo en el corazón.

Manifestaciones clínicas

La temperatura fue de 38 °C y el pulso de 90/lpm y tuvo 18 rpm. Su presión arterial fue de 130/80 mmHg.

En la exploración física se observó una mujer con sobrepeso moderado, consciente y orientada. Le faltaba el aire cuando trataba de ascender dos pisos de escaleras. La revisión de los ojos indicó la presencia de una mancha de Roth (mancha blanquecina y redonda rodeada de hemorragia), en la retina derecha. En las conjuntivas y en los dos ojos se observaron petequias. La exploración de cabeza y cuello fue por lo demás normal. Debajo de dos uñas en la mano derecha y otra en la mano izquierda se identificaron hemorragias en astilla. En la yema de un dedo de la mano y de otro del pie se detectaron nódulos de Osler (lesiones cutáneas de color rojo violáceo, elevadas, pequeñas y dolorosas). El tamaño de su corazón era normal a la percusión. En la auscultación se percibió en la punta del corazón un soplo diastólico de tono bajo compatible con estenosis de la válvula mitral; en el hemitórax izquierdo se percibió un chasquido intenso de abertura de la válvula mencionada. La exploración del abdomen fue difícil por su obesidad, y uno de los observadores percibió esplenomegalia. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

Las radiografías de tórax señalaron que el contorno cardiaco y los pulmones eran normales. El ECG mostró ritmo sinusal normal con ondas P amplias (conducción auricular). La ecocardiografía mostró auriculomegalia izquierda, engrosamiento de las valvas de la mitral y una vegetación en la valva posterior. El hematócrito fue de 29% (bajo). El número de leucocitos fue de 9 800 células/μl (normal alto), y de ellos 68% fueron PMN (cifra alta), 24% linfocitos y 8% monocitos. La velocidad de eritrosedimentación fue de 68 mm/h (alta). Los resultados de la química sanguínea, incluidos electrólitos y las pruebas de función renal, fueron normales. El día de la hospitalización se practicaron tres hemocultivos; un día después hubo detección positiva de cocos grampositivos en cadenas, que correspondían a la variedad estreptococo viridans que más tarde fueron identificados como *Streptococcus sanguis* (capítulo 14).

Tratamiento

Se hizo el diagnóstico de endocarditis de la válvula mitral. Se comenzó la administración intravenosa de penicilina G y de gentamicina, que se continuó durante dos semanas. En término de tres días de haber comenzado el tratamiento la paciente no tenía fiebre y después de la eliminación satisfactoria de la endocarditis, fue referida a una institución para el tratamiento crónico de su cardiopatía.

Comentario

Los síntomas y los signos de la **endocarditis** son muy variados porque pueden abarcar cualquier órgano o sistema de manera secundaria (o primaria). La fiebre afecta a 80 a 90% de los pacientes; los escalofríos, a 50%, la anorexia y la pérdida de peso a 25%, y las lesiones cutáneas a 25%, aproximadamente. Muy a menudo surgen manifestaciones inespecíficas como cefalea, dorsalgia, tos y artralgias. El cuadro inicial, incluso en 25% de los sujetos con endocarditis, incluye signos neurológicos o accidentes cerebrovasculares como consecuencia de émbolos que provienen de **vegetaciones de válvulas cardiacas**. En 10 a 20% de los pacientes se detectan dorsalgia, dolor retroesternal y también en el abdomen. De manera típica, los signos físicos incluyen fiebre en 90 a 95% de los casos; un **soplo cardiaco** en 80 a 90% de los pacientes y en 15% de ellos aparece un soplo nuevo o cambiante, y en la mitad de los enfermos hay esplenomegalia y lesiones cutáneas. Otros signos y síntomas físicos guardan relación directa con las complicaciones de las metástasis infecciosas y émbolos provenientes de las vegetaciones.

Los estreptococos y estafilococos causan aproximadamente 80% de los casos de endocarditis. Entre ellos, los más comunes son estreptococos viridans de varias especies (p. ej., , de los grupos *S. sanguis, Streptococcus salivarius, Streptococcus mutans, Streptococcus bovis;* capítulo 14), y le siguen en frecuencia enterococos (como *Enterococcus faecalis*) y otros estreptococos.

Estos últimos por lo común ocasionan endocarditis en válvulas cardiacas anormales. La proporción de causas atribuidas a estafilococcos va en aumento debido a la disminución en casos asociados con enfermedad cardiaca reumática y el aumento en infecciones asociadas con cuidados sanitarios. *S. aureus* causa 20 a 25% de casos extrahospitalarios pero una proporción mucho más elevada de enfermedad asociada con cuidados sanitarios (véase la referencia de Hoen *et al.*) y de igual forma *Staphylococcus epidermidis* causa alrededor de 5% de casos extrahospitalarios y 15% de casos asociados con cuidados sanitarios (capítulo 13). *S. aureus* puede infectar válvulas cardiacas normales; afecta frecuentemente a quienes abusan de drogas intravenosas y a pacientes que adquieren su enfermedad en el hospital, y ocasiona una enfermedad de evolución más rápida que la causada por estreptococos. *S. epidermidis* origina endocarditis de prótesis valvulares y sólo en raras ocasiones infecta válvulas originales. En 5%, aproximadamente hay ataques de bacilos gramnegativos (capítulos 15, 18) y en 3% de los casos el ataque proviene de levaduras como *Candida albicans* (capítulo 45). Con frecuencia cada vez mayor se ha señalado el ataque de patógenos nuevos como especies de *Bartonella* (capítulo 22) y de *Tropheryma whipplei* (capítulo 22). Otras bacterias más, y de hecho cualquier especie, pueden originar endocarditis; un porcentaje bajo de casos son cultivos negativos.

Instrumentos diagnósticos importantes son la anamnesis y la exploración física. El diagnóstico lo sugiere la positividad repetida de hemocultivos, sin otros sitios de infección. Un método complementario muy útil puede ser la ecocardiografía y la presencia de vegetaciones en una persona con fiebre inexplicable, sugiere decididamente la presencia de endocarditis.

La antibioticoterapia es esencial, porque sin tratamiento la endocarditis es mortal. Es necesario utilizar fármacos bactericidas. La elección de antibióticos depende del microorganismo infeccioso: en el caso de estreptococos viridans se recurrirá a penicilina G más gentamicina durante dos semanas, y en el caso de enterococos susceptibles se recomienda que la terapia dure seis semanas. La vancomicina es el tratamiento de elección en el caso de cepas resistentes a la penicilina. En caso de multirresistencia en enterococos, se requiere el uso de fármacos más recientes como linezolida y daptomicina, con base en datos de susceptibilidad. La infección por *S. aureus* se trata con una penicilina resistente a la penicilinasa (como nafcilina), a la que se agrega frecuentemente gentamicina durante los primeros cinco días del tratamiento. Los lactámicos β sustituyen a la vancomicina en caso de estreptococos resistentes a meticilina/oxacilina. La daptomicina se recomienda para infecciones por MRSA del hemicardio derecho y es útil de igual manera para enfermedad contralateral. La duración del tratamiento por endocarditis estafilocócica es de seis semanas. Las bacterias no estreptocócicas y estafilocócicas se tratan con antibióticos de actividad demostrada a partir de antibiogramas locales. La cirugía con reemplazo valvular es necesaria cuando la insuficiencia valvular (p. ej., insuficiencia valvular aórtica) resulta en falla cardiaca aun cuando exista infección activa y para controlar infección rebelde al tratamiento médico (como sucede con patógenos micóticos y gramnegativos). Otras indicaciones importantes de cirugía son la diseminación contigua de la infección al seno de Valsalva o abscesos resultantes y émbolos de prevención debido a vegetaciones grandes.

REFERENCIAS

Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, *et al.*: Infective endocarditis: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications. A statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: Endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation* 2005;111:e394; reference to these includes Correction, *Circulation* 2005;112:2373. (Executive Summary, *Circulation* 2005;111:3167, Correction, *Circulation* 2005;112:2374). Accessed at http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/111/23/e394.

Hoen B, Duval X: Infective endocarditis. *N Engl J Med* 2013;368:1425-1433.

ABDOMEN

CASO 6: PERITONITIS Y ABSCESOS

Un estudiante varón de 18 años fue hospitalizado por presentar fiebre y dolor abdominal. Su estado había sido satisfactorio tres días antes de su internamiento, y para esa fecha presentó dolor abdominal difuso y vómito después de la cena. El dolor persistió por la noche y empeoró en la mañana siguiente. Fue atendido en el servicio de urgencias y allí se le detectó dolor a la palpación del abdomen. Los datos de las radiografías de tórax y de abdomen fueron normales; el recuento leucocítico fue de 24 000 células/μl y fueron normales los datos de otras pruebas de laboratorio, incluidas las de hígado y páncreas y la función renal. El paciente retornó a su hogar, pero el dolor abdominal y el vómito intermitente persistieron y se presentó fiebre de 38 °C. El paciente fue hospitalizado al tercer día de su trastorno.

No se obtuvieron antecedentes de consumo de fármacos, abuso de drogas o alcohol, traumatismos o infecciones, y los antecedentes familiares fueron negativos.

Manifestaciones clínicas

La temperatura fue de 38 °C, el pulso de 110/lpm y hubo 24 rpm. La presión arterial fue de 110/70 mmHg.

En la exploración física se observó a un varón joven de desarrollo normal cuyo cuadro era agudo y que se quejaba de dolor abdominal difuso. La exploración de tórax y de corazón arrojó resultados normales, pero el abdomen mostraba distensión moderada. Se observó dolor difuso a la palpación en la zona periumbilical y en el cuadrante inferior derecho, con rigidez muscular durante la maniobra. Hubo sugerencia de una masa en el cuadrante inferior derecho. Los ruidos intestinales fueron poco frecuentes.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El hematocrito fue de 45% (normal) y la cifra de leucocitos, 20 000 células/µl (muy elevado), y de ellos 90% fue PMN (muy elevado) y 12%, linfocitos. La concentración de amilasa sérica (una prueba para detectar pancreatitis) fue normal y también lo fueron los electrólitos y los resultados de las funciones de hígado y riñones. Fueron normales también las radiografías de tórax y de abdomen, aunque se identificaron algunas asas de intestino delgado distendidas. La CT del abdomen detectó un cúmulo de líquido en el cuadrante inferior derecho, que se extendía al interior de la pelvis.

Tratamiento

Se envió al paciente al quirófano y durante la operación se identificaron apéndice perforado y un gran absceso periapendicular que se extendía al interior de la pelvis. Se extirpó el apéndice, se evacuaron unos 300 ml de líquido fétido del absceso y se colocaron drenajes. Durante dos semanas se administró ertapenem. Cada día se extrajo parte de los drenajes y se retiraron por completo una semana después de la operación. En el cultivo del líquido del absceso se identificaron como mínimo seis especies de bacterias, incluidas *E. coli* (capítulo 15), *Bacteroides fragilis* (capítulo 21), estreptococos viridans y enterococos (microbiota gastrointestinal normal). El paciente se recuperó por completo.

Comentario

El dolor es la manifestación primaria usual de la **peritonitis** y de la formación de **abscesos intraabdominales**. El sitio y la intensidad del dolor dependen de la enfermedad primaria de las vísceras abdominales. La perforación de la úlcera gástrica ocasiona inmediatamente dolor epigástrico que se propaga rápido a todo el abdomen, con derramamiento del contenido gástrico. La rotura del apéndice o de un divertículo en el colon sigmoide suele originar dolor más localizado en los cuadrantes inferiores derecho o izquierdo, respectivamente, que acompaña a la peritonitis focal y a la formación de abscesos. El dolor se acompaña de náusea, vómito, anorexia y fiebre.

Los signos y los síntomas después del derrame agudo del contenido intestinal al interior del abdomen presentan dos fases. La primera es la de peritonitis, en la que surge dolor agudo por la infección por *E. coli* y otras bacterias anaerobias facultativas; esto sucede en los primeros dos días y sin tratamiento ocasiona una elevada tasa de mortalidad. La segunda fase es la formación de abscesos y se asocia con la infección por *B. fragilis* y otras bacterias anaerobias obligadas.

En la exploración física durante la fase aguda se detecta rigidez y dolor difuso o local en el abdomen; a menudo el dolor a la palpación es intenso cuando se retira la presión ejercida en el abdomen durante la palpación, situación conocida como **dolor por rebote**. Más tarde el abdomen se distiende y desaparecen la motilidad intestinal **(íleo paralítico)**.

Las bacterias que componen la **microbiota gastrointestinal normal** (capítulo 10) son las que causan la peritonitis aguda y los abscesos asociados con la rotura intestinal: *E. coli* y otros bacilos gramnegativos intestinales, enterococos, estreptococos viridans, *B. flagilis* y otros bacilos gramnegativos anaerobios y cocos grampositivos anaerobios y bacilos de muchas especies.

Los elementos iniciales importantes en el diagnóstico son los datos de la anamnesis y la exploración física, para valorar el carácter agudo y el sitio en que surgió el problema. Las pruebas de laboratorio como el recuento leucocítico, constituyen resultados anormales inespecíficos o permiten descartar enfermedades como pancreatitis, como ocurrió en este caso. Las radiografías del abdomen son complementos diagnósticos de gran utilidad y en ellos se pueden identificar cúmulos de gas y líquido en el intestino grueso y delgado. Por medio de las CT mejoradas con contraste se obtiene información más definitiva que orienta hacia anormalidades focales. En caso de que exista líquido, su aspiración con aguja y su cultivo permite corroborar el diagnóstico de infección, pero no define el cuadro patológico primario.

Se necesita a veces una operación para definir el diagnóstico, al mismo tiempo que se da un paso definitivo en el tratamiento. Se puede corregir el cuadro patológico primario como gangrena intestinal o rotura de apéndice y se puede drenar la infección localizada. Complementos importantes son los antimicrobianos y la selección de fármacos debe incluir uno que sea activo contra bacilos gramnegativos intestinales, otro contra enterococos y estreptococos y el tercero contra bacilos gramnegativos anaerobios que suelen ser resistentes a la penicilina G. Se han descrito innumerables esquemas y uno de ellos incluye gentamicina, ampicilina y metronidazol; recientemente la piperacilina/tazobactam y ertapenem han sustituido regímenes de tres fármacos.

CASO 7: GASTROENTERITIS

Cuatro miembros de una familia de campesinos migrantes fueron atendidos en un hospital con diarrea y fiebre que habían comenzado 6 a 12 h antes. El padre tenía 28 años, la madre 24 y los niños 6 y 4 años de edad. Dos días antes, la familia había tenido un convivio en el parque donde los alimentos los preparó un pariente que apenas la semana previa se había recuperado de una enfermedad similar. Otro miembro de la familia, de ocho meses no consumió los mismos alimentos y no se enfermó. Aproximadamente 36 h después de la comida, los niños presentaron cólicos abdominales, fiebre y diarrea acuosa, síntomas que persistieron en las 12 h previas a su atención, y en ambos la diarrea se tornó sanguinolenta. Los padres presentaron síntomas similares 6 y 8 h antes, pero en su excremento no se identificó sangre visible. Los padres afirmaron que varias personas que atendieron la celebración tuvieron enfermedades similares.

Manifestaciones clínicas

En la exploración física los niños tuvieron temperaturas de 39 a 39.5 °C, y los padres, 38 °C. Los cuatro tuvieron taquicardia, y su aspecto clínico era de un cuadro agudo. Los dos niños presentaban deshidratación.

Datos de laboratorio

El número de leucocitos varió de 12 000 a 16 000 células/μl, y de ellos 55 a 76% fueron PMN. En las preparaciones húmedas de heces se identificaron múltiples leucocitos. Las heces de los niños mostraban sangre y moco a simple vista. El cultivo del excremento de cada uno de los pacientes más adelante permitió identificar *Shigella flexneri* (capítulo 15).

Tratamiento

Los dos niños fueron hospitalizados y se les suministraron por vía endovenosa soluciones y ampicilina. Los adultos fueron tratados de forma ambulatoria con soluciones orales y ciprofloxacino oral. Todos se recuperaron sin problema. El seguimiento de salud pública determinó que el pariente que preparó los alimentos fue quien inició el brote.

Comentario

Los principales signos clínicos de las infecciones gastrointestinales son náusea, vómito, dolor abdominal, diarrea y fiebre. Los síntomas predominantes dependen del agente causal y de si es toxígeno, invasivo o tiene ambas características. Si los alimentos contienen toxinas preformadas, suelen ocasionar náusea y vómito. Por ejemplo, *S. aureus* (capítulo 13) y *Bacillus cereus* (capítulo 11) producen **enterotoxinas** en los alimentos y aparecen náusea y vómito (y en menor magnitud, diarrea) unas cuantas horas después de ingerirlos. Los microorganismos que generan enterotoxinas afectan la zona proximal del intestino delgado y tienden a ocasionar **diarrea acuosa** (p. ej., , *E. coli* enterotoxígena [capítulo 15], y *Vibrio cholerae* [capítulo 17]). Los agentes como los rotavirus, el virus de Norwalk (capítulo 37) y *Giardia lamblia* (*G. duodenalis* capítulo 46), originan diarrea acuosa por un mecanismo de irritación o destrucción de la mucosa. Las bacterias invasoras o las que producen citotoxinas infectan el colon y ocasionan dolor abdominal, diarrea frecuente, a menudo con sangre y moco, fiebre y deshidratación, como ocurrió con los cuatro miembros de esta familia; el conjunto de signos y síntomas se llama disentería, y entre los microorganismos que la causan están salmonelas de muchos serotipos, shigelas, *Campylobacter jejuni* (capítulo 17), *E. coli* enteroinvasiva, *Clostridium difficile* (capítulo 11), y *E. histolytica* (capítulo 46). La **fiebre tifoidea** es una infección mortal que se caracteriza por fiebre, cefalea y síntomas abdominales variables; *Salmonella typhi* (capítulo 15) (y también *Salmonella paratyphi* A y B, y *Salmonella* Choleraesuis) y *Yersinia enterocolitica* (capítulo 19) provocan fiebre tifoidea. En el cuadro 48-4 se incluyen los agentes patológicos que a menudo causan gastroenteritis inducida por toxinas, infecciones gastrointestinales invasivas y no invasivas.

Las infecciones gastrointestinales son muy frecuentes, en particular en países en desarrollo, en donde el índice de mortalidad que ocasionan es elevado en lactantes y niños pequeños. Es de suma importancia la prevención por medidas de salud pública que incluirían planes para reforzar la higiene satisfactoria y contar con abastos sanitarios de agua y alimentos.

Solamente en un porcentaje pequeño de casos se identifica el agente causal por medio de un coprocultivo o un inmunoensayo. Esto probablemente cambie con la implantación de paneles de amplificación de ácido nucleico de base amplia que puedan detectar simultáneamente infecciones por bacterias, por virus y por protozoarios con sensibilidad mejorada. Algunos de tales paneles detectan patógenos que usualmente no se buscan en laboratorios clínicos, por ejemplo ETEC y EPEC (capítulo 15). El descubrimiento de leucocitos en montículos fecales húmedos es muy sugestivo de infección por un patógeno invasivo, aunque también puede verse en causas no infecciosas de colitis, como en el caso de enfermedad intestinal inflamatoria.

Mantener una hidratación adecuada es uno de los elementos de mayor importancia del tratamiento, particularmente en lactantes y en niños. Para tratar la fiebre intestinal (**fiebre tifoidea)** se necesitan antimicrobianos, que acortan la duración de los síntomas en las infecciones por *Shigella, Campylobacter* y *V. cholerae,* pero prolonga los síntomas y la diseminación fecal de *Salmonella*.

No existe tratamiento específico contra la infección por rotavirus, que constituye la causa más común de diarrea viral, sin embargo, se dispone de una vacuna como medida preventiva.

REFERENCIAS

Dennehy PH: Viral gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30:63.

Dupont HL: Approach to the patient with infectious colitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28:39-46.

DuPont HL: Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med* 2014;370:1532-1541.

Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, *et al.*: Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clin Infect Dis* 2001;32:331.

Marcos LA, Dupont HL: Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. *J Infect* 2007;55:385.

Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD: Noroviruses: a comprehensive review. *J Clin Virol* 2009;44:1.

VÍAS URINARIAS

CASO 8: INFECCIÓN VESICAL AGUDA SIN COMPLICACIONES

Una mujer de 21 años acudió a la enfermería de la universidad con el antecedente de que en los dos días anteriores aumentó su frecuencia de micciones, junto con urgencia y disuria. Su orina había sido rosa o sanguinolenta por al menos 12 h. No existía el antecedente de alguna infección del aparato urinario. En fecha reciente había iniciado su actividad sexual y utilizaba un diafragma y un espermicida.

Manifestaciones clínicas

La temperatura fue de 37.5 °C, su pulso de 105/lpm y 18 rpm. Su presión arterial fue de 105/70 mmHg.

En la exploración física el único signo anormal fue el dolor leve a la palpación profunda en el área suprapúbica.

CUADRO 48-4 Microorganismos que con frecuencia causan gastroenteritis

Microorganismo	Periodo típico de incubación	Signos y síntomas	Aspectos epidemiológicos	Patogenia	Manifestaciones clínicas	Capítulo
Staphylococcusaureus	1 a 8 h (en raras ocasiones incluso 18 h)	Náusea y vómito	Los estafilococos proliferan en carnes, productos lácteos y otros alimentos y producen enterotoxina	La enterotoxina actúa en los receptores intestinales que trasmiten impulsos a los centros bulbares que controlan el vómito	Cuadro muy frecuente de comienzo repentino, con vómito intenso que dura incluso 24 h; la recuperación por lo común se observa en 24 a 48 h. Aparece en personas que consumen el mismo alimento. No se necesita tratamiento, salvo la restauración de líquidos y electrólitos.	13
Bacillus cereus	2 a 16 h	Vómito o diarrea	El arroz frito recalentado es el vehículo frecuente	Enterotoxina formada en alimentos o en los intestinos, por proliferación de *B. cereus*	Con un periodo de incubación de 2 a 8 h, vómito predominantemente, pero si es de 8 a 16 h, diarrea como manifestación principal.	11
Clostridium perfringens	8 a 16 h	Diarrea acuosa	Los clostridios prosperan en platillos de carne recalentados. Se ingieren números enormes	La enterotoxina se produce durante la esporulación del intestino; causa hipersecreción	La diarrea profusa comienza en forma repentina; el vómito es ocasional. La recuperación por lo común se presenta en 1 a 4 días, sin tratamiento. Identificación de innumerables clostridios en cultivos de alimentos y de heces de pacientes.	11
Clostridium botulinum	18 a 24 h	Parálisis	*C. botulinum* prolifera en alimentos anaerobios y produce toxina	La toxina que se absorbe en los intestinos bloquea la acetilcolina en la unión neuromuscular.	Diplopia, disfagia, disfonía y dificultad para respirar. El tratamiento incluye apoyo ventilatorio y administración de antitoxina. El diagnóstico se confirma al detectar la toxina en sangre o heces.	11
Escherichia coli (enterotoxígena; ETEC)	24 a 72 h	Diarrea acuosa	La causa más frecuente de la "diarrea de los viajeros"	ETEC en los intestinos produce enterotoxina termolábil (HL) o termoestable (HS). Las toxinas[a] originan hipersecreción en el intestino delgado	La diarrea por lo común comienza en forma repentina y el vómito es raro. Infecciones graves en los recién nacidos. En adultos, el trastorno cede por sí sólo en cuestión de 1 a 3 días.	9,15
Escherichia coli (enteroinvasora; EIEC)	48 a 72 h	Disentería	Brotes ocasionales de disentería; causa poco frecuente de infección esporádica	Invasión inflamatoria de la mucosa del colon; es similar a la shigelosis. EIEC guarda gran semejanza con *Shigella*	Diarrea aguda sanguinolenta con malestar general, cefalea, fiebre alta y dolor abdominal. Enfermedad grave en niños desnutridos. En las heces hay WBC.	9,15
Escherichia coli (productora de la toxina de Shiga; STEC)	24 a 72 h	Diarrea acuosa y sanguinolenta	La diarrea sanguinolenta surge con el consumo de carne molida mal cocida en restaurantes de comida rápida	STEC produce toxinas similares a la de Shiga. A menudo es el serotipo O157:H7	Causa diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica, y la mayor parte de los casos de síndrome hemolítico-urémico. El coprocultivo intenta identificar *E. coli* sorbitol-negativa y el serotipo de microorganismos, con antisueros contra O157:H7. Es posible detectar otros serotipos por medio de la producción de la toxina y para ello se utilizan enzimoinmunoensayos que contienen anticuerpos contra las toxinas similares a las de Shiga.	9,15

(*continúa*)

CUADRO 48-4 Microorganismos que con frecuencia causan gastroenteritis (*continuación*)

Microorganismo	Periodo típico de incubación	Signos y síntomas	Aspectos epidemiológicos	Patogenia	Manifestaciones clínicas	Capítulo
Escherichia coli (enteropatógena, EPEC)	Comienzo lento	Diarrea acuosa	Causa frecuente de diarreas en recién nacidos en países en desarrollo. Básicamente es la causa de diarrea epidémica en salas de cunas de recién nacidos y causa cifras altas de mortalidad; es menos frecuente ahora en países desarrollados	EPEC se fija a las células epiteliales de la mucosa y produce cambios en su citoesqueleto; puede invadir células. Es diferente de otras *E. coli* que son enteroadherentes o enteroagregadas y causan diarrea	Comienzo insidioso en un lapso de 3 a 6 días con inquietud, inapetencia y diarrea. El cuadro suele durar 5 a 15 días. La deshidratación, el desequilibrio de electrólitos y otras complicaciones pueden causar la muerte. Es importante la administración de antimicrobianos.	9,15
Vibrio parahaemolyticus	6 a 96 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos proliferan en mariscos y en el intestino producen toxina o lo invaden	La toxina ocasiona secreción excesiva. Los vibriones invaden el epitelio; las heces pueden ser sanguinolentas	Diarrea de comienzo repentino en los grupos que consumieron el mismo alimento, en particular, cangrejos y otros mariscos. El sujeto se recupera por lo común completamente en cuestión de 1 a 3 días. Los cultivos de alimentos y heces son positivos.	17
Vibrio cholerae	24 a 72 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos proliferan en el intestino y producen toxina	La toxina[a] ocasiona hipersecreción en el intestino delgado. La dosis infectante es mayor de 10^5 microorganismos	Diarrea líquida de comienzo repentino en zonas endémicas. Se necesita la reposición inmediata de líquido y electrólitos por vía intravenosa u oral. Los coprocultivos son positivos. Se necesita usar medios selectivos.	9,18
Especies de *Shigella* (casos leves)	24 a 72 horas	Disentería	Los microorganismos proliferan en el epitelio intestinal superficial	Los microorganismos invaden células epiteliales; hay sangre, moco y PMN en las heces. La dosis infectante es $< 10^3$ microorganismos	Diarrea de comienzo repentino; puede haber sangre y pus en heces; cólicos, tenesmo y letargo. Leucocitos en heces. Los cultivos de heces son positivos. Es un cuadro que a menudo es de poca intensidad y cede por sí solo. Se necesita la reposición de líquidos.	15
Shigella dysenteriae tipo 1 (bacilo de Shiga)	24 a 72 h	Disentería, diarrea sanguinolenta	Causa brotes en países en desarrollo	Produce citotoxina y neurotoxina	Diarrea sanguinolenta profusa en niños de países en desarrollo; la cifra alta de mortalidad es rara en Estados Unidos.	15
Especies de *Salmonella*	8 a 48 h	Disentería	Los microorganismos proliferan en el intestino; no producen toxina	Infección superficial del intestino, escasa invasión. La dosis infectante es $>10^5$ microorganismos	Diarrea de comienzo gradual o repentino y febrícula. Leucocitos en las heces. Los coprocultivos son positivos. No se necesitan los antimicrobianos, salvo que se sospeche diseminación generalizada o la persona sea inmunocomprometida. El estado de portador prolongado es frecuente.	15
Salmonella typhi (*S paratyphi* A y B; *S choleraesuis*)	10 a 14 días	Fiebre tifoidea	Los humanos constituyen el único reservorio de *S. typhi*	El microorganismo invade la mucosa intestinal y prolifera en los macrófagos y en los folículos linfáticos de intestinos; penetra en las glándulas linfáticas mesentéricas y de ahí a la sangre y se disemina	Comienzo insidioso con malestar general, anorexia, mialgias y cefalea; fiebre alta remitente; puede haber estreñimiento o diarrea. En cerca de la mitad de los enfermos hay hepatoesplenomegalia. El diagnóstico se hace por cultivo de *S. typhi* de sangre, heces o material de otros sitios. La antibioticoterapia es importante.	15

(*continúa*)

CUADRO 48-4 Microorganismos que con frecuencia causan gastroenteritis (*continuación*)

Microorganismo	Periodo típico de incubación	Signos y síntomas	Aspectos epidemiológicos	Patogenia	Manifestaciones clínicas	Capítulo
Yersinia enterocolitica	4-7 días	Fiebre tifoidea	Trasmisión fecal-oral. Microorganismo transportado por alimentos. Animales infectados	Gastroenteritis o adenitis mesentérica. Ocasionalmente bacteriemia. También a veces produce toxina	Dolor abdominal, diarrea y fiebre intensos; presencia de PMN y sangre en las heces; poliartritis, eritema nudoso especialmente en niños; es importante conservar la muestra de heces a 4 °C antes de cultivarla.	19
Clostridium difficile	Días o semanas después de antibioticoterapia	Disentería	Colitis seudomembranosa después de uso de antibióticos	Elabora enterotoxina (toxina A) y citotoxina (toxina B) que causan diarrea y necrosis de células epiteliales	La diarrea y la fiebre comienzan repentinamente. Presencia de la toxina en las heces. En el caso típico, el paciente recibió días o semanas antes, antibióticos.	11
Campylobacter jejuni	2-10 días	Disentería	Infección vía oral después de la ingestión de alimentos o el contacto de mascotas. Los microorganismos proliferan en el intestino delgado	Invasión de la mucosa. No hay certeza en la producción de toxina	Fiebre, diarrea; PMN y sangre fresca en las heces, particularmente en niños. El cuadro por lo común cede por sí solo. Se necesitan medios especiales para cultivos a 42 °C. Los pacientes por lo común se recuperan en un lapso de 5-8 días.	17
Rotavirus	48-96 h	Diarrea acuosa, vómito y febrícula	El virus es la causa principal del cuadro diarreico en lactantes y niños de corta edad, a nivel mundial	Induce cambios histopatológicos de células de la mucosa intestinal	Antes del cuadro abdominal y la diarrea surge fiebre y vómito. La muerte de lactantes en países en desarrollo se presenta después de deshidratación y desequilibrio electrolítico. La evolución típica es de 3 a 9 días. El diagnóstico se hace al detectar en un inmunoensayo el antígeno de rotavirus en heces.	37
Norovirus	24-48 h	Diarrea acuosa y vómito	Causa principal de diarrea epidémica en particular en situaciones cerradas como sería el crucero en naves; índice de ataque secundario grande	Induce cambios histopatológicos en la mucosa intestinal, como el aplanamiento de micropilosidades	Dolor abdominal de comienzo repentino seguido de náusea, vómito y diarrea. Puede haber febrícula; se han descrito malestar general, mialgias y cefalea. La evolución típica es de 2 a 3 días. Diagnóstico con RT-PCR.	37
Giardia lamblia	1-2 semanas	Diarrea acuosa	Parásito intestinal identificado con mayor frecuencia. Patógeno frecuente en brotes de diarrea de origen hídrico	Interacción compleja y poco comprendida del parásito con células de la mucosa y la reacción inmunitaria del enfermo	La diarrea termina por ceder en cuestión de 1 a 3 semanas; los síntomas crónicos de diarrea intermitente, absorción deficiente y pérdida de peso pueden persistir 6 meses. El diagnóstico se hace al detectar trofozoítos o quistes en heces o contenido duodenal o por medio de la detección del antígeno de *Giardia* en inmunoensayo de heces.	46
Entamoeba histolytica	Comienzo gradual, en un lapso de 1-3 semanas	Disentería	Prevalencia máxima en países en desarrollo; 10% de la población mundial puede estar infectada con el microorganismo	Invade la mucosa del colon y ocasiona lisis de células, incluidos los leucocitos	Son frecuentes diarrea, dolor abdominal, pérdida de peso y fiebre. El trastorno puede ocasionar innumerables alteraciones, que incluyen colitis fulminante, perforación y absceso de hígado. El diagnóstico se confirma al detectar trofozoítos o quistes en las heces.	46

[a] La toxina del cólera y la toxina de *E. coli* termolábil estimulan la actividad de la adenilil ciclasa, por lo cual aumenta la concentración de cAMP en el intestino, de tal forma que se desencadena la secreción de cloruro y agua, y disminuye la reabsorción de sodio. La toxina termoestable de *E. coli* activa la guanilil ciclasa de intestino y ocasiona hipersecreción.

Datos de laboratorio

En los métodos de laboratorio practicados se observó un incremento moderado en el número de leucocitos, que fue de 13 000 células/µl; de ellos, 66% fue PMN, cifra también elevada. Otras sustancias como el nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina y la glucosa sérica y los electrólitos en suero fueron normales. El sedimento urinario incluyó innumerables leucocitos, un número moderado de eritrocitos y muchas bacterias, todo lo cual sugería infección de las vías urinarias. En el cultivo se identificaron más de 10^5 CFU/ml de *E. coli* (signo diagnóstico de infección de las vías urinarias); no se practicaron antibiogramas.

Tratamiento

Bastaron tres días de tratamiento con trimetoprima/ sulfametoxazol para que la paciente curara.

Comentario

Véase adelante.

CASO 9: INFECCIÓN COMPLICADA DE LAS VÍAS URINARIAS

Un varón de 67 años presentó fiebre y choque tres días después de la resección transuretral de próstata hipertrófica. Dos semanas antes había tenido obstrucción urinaria y retención como consecuencia de la hipertrofia, y se diagnosticó hipertrofia prostática benigna. Fue necesario colocar una sonda vesical. Después de la cirugía se dejó una sonda a permanencia en la vejiga, unida a un sistema de drenaje cerrado. Dos días después de la operación, el paciente presentó fiebre que llegó a 38 °C; en el tercer día posoperatorio tuvo confusión, desorientación y escalofrío con estremecimiento.

Manifestaciones clínicas

La temperatura fue de 39 °C, el pulso de 120/lpm y 24 rpm. La presión arterial fue de 90/40 mmHg.

En la exploración física, el paciente mencionó su nombre, pero mostraba desorientación de tiempo y lugar. Su corazón, pulmones y abdomen fueron normales. Se observó un leve dolor a la palpación costovertebral en el área del riñón izquierdo.

Datos de laboratorio

En las pruebas de laboratorio se observaron que el hematocrito y la hemoglobina eran normales, pero hubo un incremento en el número de leucocitos, de 18 000 células/µl; de ellos, 85% fue PMN (muy elevado). El nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina y la glucosa sérica y los electrólitos fueron normales. Se obtuvo orina del orificio de la sonda, utilizando una jeringa con aguja. El sedimento de la orina contenía innumerables leucocitos, unos cuantos eritrocitos, y numerosas bacterias, lo cual denotó que había una infección de vías urinarias. En el cultivo de orina se identificaron más de 10^5 CFU/ml de *E. coli* (capítulo 15), y ello corroboró el diagnóstico de infección de vías urinarias. El cultivo de sangre también produjo *E. coli*, la cual fue susceptible a cefalosporinas de tercera generación, pero resistente a gentamicina, fluoroquinolonas y trimetoprim-sulfametoxazol.

Tratamiento y evolución hospitalaria

El paciente tenía infección de vías urinarias, asociada por la presencia de la sonda vesical. Se supuso que había afectación del riñón izquierdo, por el dolor a la palpación en el ángulo costovertebral izquierdo. Mostraba también bacteriemia secundaria con choque (se denomina a veces septicemia por gramnegativos y choque). Recibió soluciones y antibióticos por vía intravenosa y se recuperó. Se había asilado la misma cepa de *E. coli* de otros pacientes en el hospital, y ello indicó que hubo diseminación intrahospitalaria de la bacteria.

Comentario

Las infecciones de vías urinarias pueden abarcar la porción inferior de ella y además, la zona superior. **Cistitis** es el término que se utiliza para describir la infección de la vejiga, con signos y síntomas como disuria, urgencia y poliaquiuria, como en el caso 8. **Pielonefritis** es el término que se utiliza para describir la infección de vías superiores, a menudo con dolor espontáneo y a la palpación en el costado, además de disuria, urgencia y poliaquiuria, como en el caso 9. Los dos cuadros mencionados aparecen en forma aguda pero a menudo se observan infecciones recurrentes o crónicas.

Suele aceptarse que detectar 10^5 o más de CFU/ml de orina denota bacteriuria importante, tengan o no síntomas los pacientes. Algunas mujeres jóvenes tienen disuria y otros síntomas de cistitis con menos 10^5 CFU/ml de orina; en ellas, 10^3 CFU/ml de un bacilo gramnegativo puede denotar bacteriuria notable.

La prevalencia de bacteriuria es de 1 a 2% en niñas en edad escolar; 1 a 3% en mujeres no embarazadas y de 3 a 8% en las embarazadas; la prevalencia de bacteriuria aumenta con la edad, y la proporción de infecciones entre ambos géneros prácticamente se iguala. Después de los 70 años de edad, 20 a 30% o más de las mujeres y 10% o más de los varones tienen bacteriuria. Las infecciones de las vías urinarias superiores aparecen sistemáticamente en personas que tienen sondas vesicales permanentes, incluso si se brinda atención óptima y se usan sistemas de drenaje cerrado: 50% después de 4 o 5 días; 75% después de 7 o 9 días y 100% después de dos semanas. La actividad sexual y el uso de espermicidas agrava el riesgo de las infecciones de vías urinarias (UTI, *urinary tract infection*) en mujeres jóvenes.

E. coli (capítulo 15) causa 80 a 90% de las infecciones agudas bacterianas no complicadas de vías urinarias inferiores (cistitis) en mujeres jóvenes. Otras bacterias intestinales y *Staphylococcus saprophyticus* (capítulo 13) ocasionan la mayor parte de otras infecciones vesicales con positividad en los cultivos, en dicho grupo de pacientes. Algunas mujeres jóvenes con disuria aguda que sugiere cistitis no muestran bacterias en sus cultivos de orina y en ellas habrá que pensar en cultivos selectivos para identificar *Neisseria gonorrhoeae* (capítulo 20), y *Chlamydia trachomatis* (capítulo 27) y búsqueda de una infección por herpes simple.

En caso de infecciones complicadas de vías urinarias superiores en el contexto de una anormalidad anatómica o de cateterismo crónico, el número de bacterias infectantes es mucho mayor que en los casos no complicados. A menudo se identifica *E. coli,* pero también es frecuente identificar otros bacilos gramnegativos de muchas especies (como *Klebsiella, Proteus* y *Enterobacter* [capítulo 15] y seudomonas [capítulo 16]), enterococos y estafilococos. En muchos casos coexisten dos especies o más, y las bacterias suelen ser resistentes a los antimicrobianos que se administran junto con las medidas primarias como sucedió en la situación del caso 9. En tal escenario, el paciente tuvo mayor probabilidad de infectarse con un clon de distribución mundial de *E. coli* que producía ESBL (CTX-M15), ST131 (capítulo 15).

La presencia de leucocitos en la orina es muy sugestiva pero no específica de infecciones bacterianas de las vías urinarias superiores. Los leucocitos se detectan por estudio microscópico del sedimento de orina, o de forma indirecta por detección de esterasa leucocítica con una tira reactiva. Los eritrocitos a veces se identifican en el estudio microscópico del sedimento urinario o en forma indirecta por detección de hemoglobina con una tira reactiva. Con ella también se identifica proteinuria. La presencia de bacterias en una muestra de orina no centrifugada y teñida con técnica de Gram sugiere la existencia de 10^5 bacterias o más, por mililitro de orina.

La presencia de la bacteriuria se confirma por el cultivo cuantitativo de orina, por alguno de los diversos métodos; uno de los más usados es el cultivo de orina con una asa bacteriológica calibrada para liberar 0.01 o 0.001 ml, seguido del recuento del número de las colonias que proliferan.

La cistitis aguda no complicada suele ser causada por *E. coli* susceptible a concentraciones de antibióticos que se pueden alcanzar fácilmente en la orina, adecuados para tratar las infecciones de las vías urinarias; de este modo, dentro de un marco de la primera infección de ese tipo en una mujer joven, rara vez se necesita la identificación definitiva y pruebas de susceptibilidad de las bacterias. Tales casos se pueden tratar con una sola dosis de un antibiótico apropiado, basado en antibiogramas locales o regionales, pero con tres a cinco días de terapia se obtiene una cifra menor de recidivas. Los agentes típicos utilizados incluyen trimetoprim-sulfametoxazol, nitrofurantoína o fosfomicina. La pielonefritis se trata con antibioticoterapia durante 10 a 14 días y las infecciones recidivantes o complicadas de las vías urinarias superiores se tratan mejor con antibióticos que son activos contra las bacterias infectantes; están indicadas la identificación definitiva y las pruebas de susceptibilidad. El tratamiento durante 14 días es adecuado, y durante 14 a 21 días si se advierte recidiva. Las personas con infecciones complicadas de las vías urinarias superiores deben ser sometidas a estudios en busca de anormalidades anatómicas, cálculos, y así sucesivamente.

REFERENCIAS

Chenoweth CE, Gould CV, Saint Sanjay: Diagnosis, management, and prevention of catheter-associated urinary infections. *Infect Dis Clin N Am* 2014;28:105-119.

Grigoryan L, Trautner BW, Gupta K: Diagnosis and management of urinary tract infections in the outpatient setting. *JAMA* 2014;312:1677-1684.

Gupta K, Hooton TM, Naber KG, *et al.*: International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women. A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011;52:e103.

Neal DE Jr: Complicated urinary tract infections. *Urol Clin North Am* 2008;35:13.

HUESOS Y TEJIDOS BLANDOS

CASO 10: OSTEOMIELITIS

Un varón de 34 años presentó fractura expuesta del tercio medio de la tibia y el peroné cuando la trimoto en que viajaba se desvió y le cayó encima. Fue llevado al hospital e inmediatamente al quirófano. Ahí se limpió y desbridó la herida, se redujo la fractura y se alinearon los huesos. Se colocaron placas metálicas para cubrir la solución de continuidad, y así lograr alineación y fijación de la zona. Se colocaron clavos a través de la piel y los huesos en sentidos proximal y distal a la fractura, para permitir la inmovilización de la zona y de la pierna. Un día después de la operación se observó que persistía notable hinchazón de la pierna y en los apósitos había un volumen pequeño de drenaje seroso. Dos días más tarde, persistieron la hinchazón y el rubor en la pierna, lo cual obligó a abrir la herida quirúrgica. En los cultivos del pus de la herida se identificó *S. aureus* (capítulo 13) resistente a la penicilina G, pero susceptible a la nafcilina. El paciente recibió dicho antibiótico por vía intravenosa durante 10 días y aminoraron la hinchazón y el rubor. Tres semanas más tarde comenzó a salir pus de un pequeño orificio en la herida. En los cultivos se identificó de nuevo *S. aureus*. En la exploración del orificio indicó que se había formado un trayecto fistuloso en el sitio de la fractura. La radiografía de la pierna indicó alineamiento defectuoso de la fractura. Se hizo el diagnóstico de osteomielitis y el paciente volvió al quirófano, en el cual se desbridó el sitio de fractura y se eliminaron tejidos blandos y hueso necróticos; se extrajeron los clavos y las placas y se colocaron injertos de hueso. Por medio de fijación externa se inmovilizó la fractura. Los cultivos de material obtenido durante la operación indicaron la presencia de *S. aureus*. El paciente recibió nafcilina intravenosa durante un mes y después dicloxacilina por vía oral por tres meses más. La herida y la fractura curaron lentamente. Después de seis meses en las radiografías no se identificaron signos de osteomielitis persistente y el paciente pudo soportar peso sobre la pierna.

Comentarios

La osteomielitis es consecuencia de la **diseminación hemática** de bacterias patógenas de un punto distante de infección, al hueso, o como en el caso del paciente, por inoculación directa del hueso y tejidos blandos, como ocurre en las fracturas expuestas o de un sitio vecino en que hay infección de tejidos blandos. Los principales síntomas son fiebre y dolor en el sitio infectado, aunque a veces se detecta hinchazón, rubor y expulsión ocasional de líquido de drenaje, pero los signos físicos dependen netamente del sitio anatómico de la infección. Por ejemplo, la osteomielitis de la columna puede tener como manifestaciones iniciales, fiebre, dorsalgia y signos de un absceso pararraquídeo; la infección de la cadera se manifiesta por fiebre y dolor con los movimientos y un menor arco de movilidad. En los niños, el comienzo de la osteomielitis puede ser repentino después de la propagación hemática de bacterias, en tanto que en adultos el inicio puede ser más indolente. A veces se considera que la osteomielitis es crónica o de tiempo atrás, pero sus manifestaciones clínicas son muy diversas y no es fácil diferenciar entre una variante aguda y otra crónica sobre bases clínicas o en el estudio morfológico del tejido.

S. aureus (capítulo 13) es el agente principal que causa osteomielitis en 60 a 70% de los casos (90% en niños); este microorganismo origina la infección después de la diseminación hemática o después de la inoculación directa. *S. aureus* resistente a la meticilina de origen extrahospitalario, que contiene la leucocidina de Panton-Valentine, causa osteomielitis hemática aguda que afecta múltiples sitios y que se acompaña a menudo de complicaciones vasculares. Los estreptococos, las más de las veces *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* en niños, causan osteomielitis en alrededor de 10% de los casos y bacilos entéricos gramnegativos (p. ej., *E. coli*) y otras bacterias como *P. aeruginosa* (capítulo 16) en 20 a 30% de los casos. *Kingella kingae* es una causa común en lactantes y niños menores de cuatro años (capítulo 16). También es frecuente identificar bacterias anaerobias (como las especies de *Bacteroides* [capítulo 21]), particularmente en la osteomielitis de los huesos de los pies, que aparece a veces con la diabetes y úlceras de esas zonas. Cualquier bacteria que cause infecciones en los humanos puede originar osteomielitis.

Para el diagnóstico definitivo de la causa de la osteomielitis se necesita cultivar una muestra obtenida durante una intervención quirúrgica o por la aspiración de hueso o periostio por medio de aguja que atraviese el tejido blando no infectado. En el cultivo de pus del orificio de una fístula húmeda o de una herida superficial que aparece con la osteomielitis se identifican frecuentemente bacterias que no se detectan en el hueso. Los hemocultivos suelen arrojar resultados positivos cuando existen signos y síntomas generales (fiebre, pérdida de peso, leucocitosis y aceleración de la velocidad de eritrosedimentación).

En los comienzos de la osteomielitis, las radiografías del sitio infectado son negativas. Los primeros signos que aparecen en ellas por lo común son hinchazón de tejidos blandos, pérdida de planos hísticos y desmineralización de huesos; dos a tres semanas después del comienzo aparecen erosiones en los huesos y manifestaciones de periostitis. Las gammagrafías óseas con radionúclidos tienen una sensibilidad aproximada de 90%. Se tornan positivas en plazo de pocos días a partir del comienzo y tienen utilidad particular en la localización del sitio de infección y para determinar si hay sitios múltiples de ésta; sin embargo, las gammagrafías óseas no distinguen entre fracturas, infarto óseo (como sucede en enfermedad de células falciformes) e infección. La CT y la MRI también son sensibles y en especial son útiles para determinar la extensión de la afectación del tejido blando.

Los elementos básicos del tratamiento de la osteomielitis son la administración de antimicrobianos y el desbridamiento quirúrgico. El antimicrobiano específico debe seleccionarse después de contar con los resultados del cultivo de una muestra obtenida de manera apropiada y las pruebas de susceptibilidad, y se continuarán durante seis a ocho semanas o más, según la infección. La cirugía debe practicarse para extirpar el hueso desvitalizado y secuestros que aparecen en estos casos. Parte importante de la atención es inmovilizar las extremidades infectadas y fijar las fracturas.

REFERENCIAS

Calhoun JH, Manring MM: Adult osteomyelitis. *Infect Dis Clin North Am* 2005;19:265.

Peltola H, Paakkonen M: Acute osteomyelitis in children. *N Engl J Med* 2014;370:352-360.

CASO 11: GANGRENA GASEOSA

Un varón de 22 años se cayó al viajar en su motocicleta nueva y presentó fractura expuesta del fémur izquierdo y graves desgarros con lesiones por aplastamiento del muslo y otras menos extensas en tejidos blandos de diversas zonas corporales. Fue transportado rápidamente al hospital y de inmediato lo llevaron al quirófano en donde se redujo la fractura y se desbridaron las heridas. En la hospitalización los resultados de la biometría hemática incluyeron hematocrito de 45% y concentración de hemoglobina de 15 g/100 ml. La evolución en el posoperatorio inmediato no tuvo incidentes, pero 24 h más tarde surgió dolor en el muslo y se identificó fiebre. El dolor y la hinchazón del muslo aumentaron rápidamente.

Manifestacioens clínicas y evolución

El paciente tuvo temperatura de 40 °C, pulso de 150/lpm y 28 rpm. Su presión arterial fue de 80/40 mmHg.

En la exploración física se observó que se trataba de un varón joven con un cuadro agudo y grave, en choque y delirio. El muslo izquierdo presentaba inflamación intensa y se percibía frío. Cerca de la herida se detectaron grandes áreas equimóticas y de ella manaba una secreción serosa. Se palpó crepitación, que denotaba la presencia de gas en los tejidos del muslo, signos que corroboró una radiografía, en que se detectó gas en los planos hísticos de la zona. Se hizo el diagnóstico de gangrena gaseosa y el paciente fue llevado al quirófano para un desbridamiento extenso de urgencia del tejido necrótico. En el momento de la operación, su hematocrito había disminuido a 27% y su

hemoglobina a 11 g/100 ml; el suero era de color rojo pardusco lo cual denotaba hemólisis, con hemoglobina libre en su torrente circulatorio. En los cultivos en busca de anaerobios de la muestra obtenida en la operación proliferó *Clostridium perfringens* (capítulos 11, 21). El paciente desarrolló insuficiencia renal y cardiaca y falleció tres días después de la lesión.

Comentario

El caso 11 es un ejemplo del cuadro clásico de gangrena gaseosa por clostridios. En la herida por traumatismo se inoculan *C. perfringens* (o a veces otras especies de clostridios como *C. septicum* y *C. hystoliticum*), del ambiente; las características de dichos microorganismos se expusieron en los capítulos 11 y 21. El tejido necrótico y los cuerpos extraños constituyen un entorno idóneo para la proliferación de anaerobios. Después de un periodo de incubación que por lo general es de dos a tres días, pero a veces sólo de 8 a 12 h, el dolor comienza en forma aguda e inmediata, que se intensifica rápidamente y surgen choque y delirio. La extremidad o la herida presentan dolor a la palpación, inflamación a tensión y una secreción serosanguinolenta. A menudo se palpa crepitación. La piel cerca de la herida está pálida, pero rápidamente muestra discromías y en zonas cercanas se forman ampollas llenas de líquido. Aparecen zonas cutáneas de necrosis oscura y en casos graves se advierte evolución rápida.

En pacientes como los del caso expuesto, la tinción de Gram del líquido de una vesícula o del aspirado hístico muestra grandes bacilos grampositivos con extremos romos, que sugieren fuertemente una infección por clostridios. Pocas veces se detectan PMN. La confirmación definitiva del laboratorio se obtiene con el cultivo anaerobio. Entre las entidades por incluir en el diagnóstico diferencial de la gangrena gaseosa por clostridios están la mionecrosis estreptocócica anaerobia, la mionecrosis necrosante sinérgica y la fascitis necrosante. Estas enfermedades con varios puntos de semejanza clínica se diferencian de la gangrena gaseosa por clostridios por medio de la tinción de Gram y cultivos de muestras adecuadas.

Las radiografías de la zona infectada indican la presencia de gas en planos aponeuróticos. Entre las anormalidades de las pruebas de laboratorio están el hematocrito bajo. La hemoglobina puede mostrar un resultado bajo o normal incluso si el hematocrito es bajo, y ello es consistente con hemólisis y la presencia de hemoglobina circulante acelular. Suele haber leucocitosis.

Tratamiento

La cirugía extensa con extirpación de todo el tejido necrótico infectado es un recurso necesario para salvar la vida. El antibiótico más indicado es la penicilina G. No es útil la antitoxina. El oxígeno hiperbárico puede utilizarse en centros que tienen experiencia y equipo apropiado. Una vez que surge el choque y aparece en la circulación hemoglobina libre, surgen a menudo insuficiencia renal y otras complicaciones y el pronóstico es malo.

REFERENCIAS

Stevens DL, Aldape MJ, Bryant AE: Life-threatening clostridial infections. *Anaerobe* 2012;18:254-259.

ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

CASO 12: URETRITIS, ENDOCERVICITIS Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA PÉLVICA

Una mujer de 19 años acudió a la clínica por mostrar dolor en hipogastrio que había durado dos días, y una secreción vaginal amarillenta, que surgió cuatro días antes, un día después del último día de su menstruación. La paciente había tenido relaciones sexuales con dos compañeros el mes anterior, incluida una nueva pareja 10 días antes de acudir a la clínica.

Manifestaciones clínicas

La temperatura de la paciente era 37.5 °C y los demás signos vitales eran normales. En la exploración física se observó una secreción mucopurulenta amarillenta que salía del orificio cervicouterino. A la palpación hubo moderado dolor en el cuadrante inferior izquierdo del abdomen. La exploración pélvica bimanual indicó dolor con la movilización del cuello uterino y dolor en los anexos más intenso en el lado izquierdo que en el derecho.

Datos de laboratorio

La prueba de amplificación de ácido nucleico que detecta tanto *N. gonorrhoeae* (capítulo 20) y *C. trachomatis* (capítulo 27) practicada en una muestra cervicouterina obtenida con aplicador fue positiva para *C. trachomatis*.

Tratamiento

Se hizo el diagnóstico de enfermedad inflamatoria pélvica (PID, *pelvic inflammatory disease*). La paciente fue tratada de forma ambulatoria, con una sola dosis intramuscular de ceftriaxona más azitromicina por vía oral. Sus compañeros acudieron a la clínica y recibieron tratamiento.

Comentario

En los varones la secreción uretral se clasifica como **uretritis gonocócica**, causada por *N. gonorrhoeae*, o **uretritis no gonocócica** causada por *C. trachomatis* (15 a 55% de los casos), o por *Ureaplasma urealyticum* (20 a 40% de los casos), *Micoplasma genitalium* y en pocas ocasiones por *Trichomonas vaginalis* (capítulo 46). El diagnóstico se basa en la presencia o ausencia de diplococos gramnegativos intracelulares en la secreción uretral teñida. Es importante estudiar a todo sujeto con uretritis, y para ello usar métodos de amplificación de ácido nucleico en busca de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. Las ceftriaxona se usa frecuentemente para tratar la uretritis gonocócica, pero cabe recurrir a quinolonas en regiones en que se ha señalado poca resistencia del microorganismo. La doxiciclina o la azitromicina se utilizan para combatir la uretritis no gonocócica, y se recomienda

ampliamente que los casos de varones con infección gonocócica también reciban tratamiento para infección por clamidias por la posibilidad de que coexistan ambos cuadros infecciosos.

En las mujeres, el diagnóstico diferencial de **endocervicitis** (**cervicitis mucopurulenta**) debe establecerse entre la gonorrea y la infección por *C. trachomatis*. El diagnóstico se confirma por cultivo de la secreción endocervical o por medio de estudios de amplificación de ácido nucleico de *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Se recomienda el tratamiento tanto para *N. gonorrhoeae* como para *C. trachomatis*. Los tratamientos recomendados son iguales a los que mencionamos en párrafos anteriores, contra la uretritis.

La **enfermedad inflamatoria pélvica (PID)**, también conocida como **salpingitis**, es la inflamación del útero, las trompas uterinas y tejidos anexos que no está relacionada con cirugía ni embarazo. La PID es la principal consecuencia de infecciones endocervicales por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* y más de la mitad de los casos son causados por alguno de dichos microorganismos, o por ambos. La incidencia de PID gonocócica es alta en zonas de bajos recursos, en tanto que la PID por clamidias es más frecuente entre estudiantes universitarias y clases acaudaladas. Otras bacterias que suelen intervenir como causa de PID son las intestinales y los anaerobios vinculados con la vaginosis bacteriana. El síntoma inicial frecuente es el dolor en el hipogastrio; también se observan a menudo secreción vaginal anormal, hemorragia uterina, disuria, dispareunia, náusea y vómito, y fiebre. La principal complicación de la PID es la infertilidad por oclusión de las trompas uterinas. Se ha calculado que 8% de las mujeres se tornan infértiles después de un episodio de PID; 19.5% después de dos episodios y 40% después de tres o más episodios. Hay que pensar en PID como diagnóstico clínico en toda mujer en edad reproductiva, que tenga dolor pélvico. Las pacientes suelen mostrar los clásicos signos físicos además de las manifestaciones iniciales, incluidos dolor del hipogastrio, con el desplazamiento del cuello uterino y en los anexos. El diagnóstico clínico se confirma por visualización laparoscópica del útero y las trompas uterinas, procedimiento que no es práctico y se realiza poco; sin embargo, en promedio, 66% de las mujeres con el diagnóstico clínico de PID también mostrarán ataque de trompas y útero cuando se visualicen. El diagnóstico diferencial incluye embarazo ectópico y apendicitis, y otras enfermedades. En mujeres con PID se recomienda la hospitalización con tratamiento intravenoso para disminuir la posibilidad de infertilidad. Los regímenes medicamentosos intrahospitalarios incluyen cefoxitina y doxiciclina o gentamicina y clindamicina. Los esquemas ambulatorios comprenden dosis únicas de cefoxitina o ceftriaxona más doxiciclina, o la combinación de ofloxacina y metronidazol.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention: Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-12):1.

Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014;63:1-24.

Mitchell C, Prabhu M. Pelvic inflammatory disease: current concepts in pathogenesis, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin N Am* 2013;27:793-809.

CASO 13: VAGINOSIS Y VAGINITIS

Una mujer de 28 años acudió a la clínica por mostrar una secreción vaginal blanquecina-grisácea fétida, que percibió por primera vez seis días antes. Había tenido actividad sexual con un solo compañero, que comenzó su relación con ella en el mes anterior.

Cuadro clínico

En la exploración física se detectó una secreción blanquecina-gris, homogénea y acuosa, adherida a la pared vaginal. No hubo secreción del orificio cervical. Los datos de la exploración ginecológica bimanual fueron normales y también lo fue el resto de la exploración física.

Datos de laboratorio

El pH del líquido que salía de la vagina fue de 5.5 (normal, < 4.5). Al agregar hidróxido potásico (KOH, *potassium hydroxide*) en

CUADRO 48-5 Vaginitis y vaginosis bacteriana

	Normal	Vaginosis bacteriana	Vaginitis por *T vaginalis*	Vulvovaginitis por *C albicans*
Síntomas y signos primarios	Ninguna	Secreción fétida y puede haber prurito	Secreción fétida y puede haber prurito	Secreción; prurito y ardor de la piel de la vulva
Secreción vaginal	Poca, blanca y con floculación	Mayor secreción, material acuoso, homogéneo, blanquecino, gris y adherente	Mayor secreción, de color amarillenta, verdosa, espumosa y adherente. A menudo se detectan petequias en el cuello del útero	Mayor secreción, blanquecina, caseosa y similar al queso cottage
pH	< 4.5	> 4.5	> 4.5	≤ 4.5
Olor	Ninguno	Frecuente, a pescado	A veces huele a pescado	Ninguno
Imagen microscópica	Células epiteliales con lactobacilos	Células clave con bacilos adheridos; ausencia de PMN	Tricomonas móviles; muchos PMN	En la preparación con KOH se advierten levaduras en fase de eclosión y seudohifas
Tratamiento	Ninguno	Metronidazol por vía oral o tópica	Metronidazol por vía oral	Algún antimicótico azólico tópico

una laminilla se percibió un olor semejante a amoniaco (olor a "pescado"). En la preparación húmeda del líquido se identificaron muchas células epiteliales con bacterias adheridas (células clave). No se detectaron PMN. El diagnóstico fue de vaginosis bacteriana.

Tratamiento

Con la administración de metronidazol dos veces al día durante siete días, el trastorno desapareció rápidamente. Se tomó la decisión de no tratar a su compañero sexual, salvo que en ella reapareciera la vaginosis.

Comentario

Es necesario diferenciar la vaginosis bacteriana, de la secreción vaginal normal, de la vaginitis por *T. vaginalis* y de la vulvovaginitis por *C. albicans* (cuadro 48-5). Las enfermedades mencionadas son muy frecuentes y afectan en promedio, a 20% de las mujeres que acuden a atención ginecológica. La mayoría de las mujeres tiene como mínimo un episodio de vaginitis o vaginosis durante la edad reproductiva.

La vaginosis bacteriana recibe su nombre porque en la secreción de la vagina no se detectan PMN, es decir, el cuadro no es inflamatorio. En los casos que surgen con la infección por *Gardnerella vaginalis* (capítulo 22), disminuye el número de los lactobacilos de la microbiota vaginal normal y se alcaliniza el pH de la vagina. Como signo concomitante surge proliferación excesiva de *G. vaginalis*, y de bacterias anaerobias vaginales, con lo cual la secreción tiene un olor a amoniaco. Además de *G. vaginalis*, en la vaginosis bacteriana se han identificado bacilos gramnegativos curvos del género *Mobiluncus* que se pueden identificar en la secreción vaginal teñida por el método de Gram.

T. vaginalis (capítulo 46) es una protozoo flagelado. La **vaginitis** por *T. vaginalis* se diagnostica mejor por medio de una preparación húmeda del líquido vaginal en la cual se identifican tricomonas móviles de tamaño un poco mayor que el de los PMN. En un medio frío las tricomonas pierden su movilidad y por ello es mejor utilizar solución salina (37 °C), laminillas y cubreobjetos a temperatura corporal cuando se elaboren las preparaciones húmedas, y examinarlas inmediatamente. Los métodos de diagnóstico más recientes son más sensibles que los preparados húmedos, y en fecha reciente al menos un método de amplificación de ácido nucleico ha sido aprobado en Estados Unidos.

La **vulvovaginitis por *Candida*** suele aparecer después de la antibioticoterapia contra alguna infección bacteriana. Los antibióticos disminuyen la microbiota genital normal y con ello permiten que proliferen levaduras y produzcan síntomas. Por esa razón, la vulvovaginitis por *Candida* no constituye realmente una enfermedad de transmisión sexual.

REFERENCIAS

Meites E. Trichomoniasis: the "neglected" sexually transmitted disease. *Infect Dis Clin North Am* 2013;27:755-764.

Nyirjesy P: Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:637.

Wendel KA, Workowski KA: Trichomoniasis: challenges to appropriate management. *Clin Infect Dis* 2007;44 Suppl 3:S123.

CASO 14: ÚLCERAS GENITALES

Un varón de 21 años acudió a la clínica y señaló como signo principal una úlcera en el pene. La lesión empezó como una pápula que se presentó tres semanas antes y evolucionó poco a poco hasta ulcerarse. No tenía dolor ni hubo pus ni secreción de la úlcera.

El paciente se había atendido en fechas anteriores por una enfermedad de transmisión sexual y se sospechaba que intercambiaba drogas por sexo.

Manifestaciones clínicas

La temperatura del paciente era de 37 °C, su pulso de 80/lpm, tenía 16 rpm y su presión arterial era de 110/80 mmHg. Se identificó una úlcera de un centímetro en el lado izquierdo del cuerpo del pene, con una base limpia y bordes elevados, con induración moderada. La palpación produjo poco dolor. Se palparon ganglios linfáticos en la ingle izquierda, de 1 a 1.5 cm de diámetro.

Datos de laboratorio

La lesión del pene se limpió con suavidad con solución salina y gasa. Se obtuvo un volumen pequeño de exudado claro de la base de la lesión que se colocó en una laminilla y se estudió con microscopia de campo oscuro. Se observaron innumerables espiroquetas. La prueba serológica de detección, la reagina plasmática rápida (RPR, *rapid plasma reagin*) en busca de sífilis, mostró positividad en una dilución de 1:8. La prueba fluorescente de absorción de anticuerpos antitreponémicos confirmatoria (FTA-ABS, *fluorescent treponemal antibody absorption test*) también fue positiva.

Tratamiento y seguimiento

El paciente recibió una sola dosis de penicilina benzatínica. Seis meses después su prueba RPR fue negativa, pero se esperaba que la prueba FTA-ABS seguiría positiva durante toda su vida.

El paciente mencionó a cinco mujeres con las que había mantenido relaciones sexuales en los treinta días anteriores de su visita a la clínica. De ellas tres fueron localizadas por investigadores en salud pública y dos mostraron resultados positivos en las pruebas serológicas para sífilis y fueron sometidas a tratamiento. Las dos restantes que no fueron localizadas habían migrado a otras ciudades y se desconocía su domicilio.

Comentarios

Las tres principales enfermedades que producen úlceras en genitales son: **sífilis**, **herpes genital y chancroide** (cuadro 48-6).

CUADRO 48-6 Las principales enfermedades ulcerosas de genitales: sífilis, herpes y chancroide[a]

	Sífilis primaria	Herpes genital (lesiones iniciales)	Chancroide
Agente etiológico[b]	*Treponema pallidum*	Virus de herpes simple	*Haemophilus ducreyi*
Periodo de incubación	Tres semanas (10 a 90 días)	2 a 7 días	3 a 5 días
Cuadro inicial usual	Pápula moderadamente dolorosa que se transforma en úlcera en el transcurso de una a varias semanas	Dolor intenso en el área genital; las pápulas se ulceran en término de 3-6 días; frecuentemente surgen fiebre, cefalea, malestar general y adenopatía inguinal	Pápula dolorosa al tacto que se ulcera en 24 h
Estudios diagnósticos	Estudio del exudado del chancro, con campo oscuro; pruebas serológicas	Cultivo del virus de células basales y líquido del chancro; tinción con anticuerpos fluorescentes de la misma muestra; técnicas de amplificación de ácido nucleico; serología	Cultivo de *Haemophilus ducreyi*, en dos tipos de medios enriquecidos (como mínimo), que contengan vancomicina y que se incuben a 33 °C
Secuelas persistentes	Sífilis secundaria con lesiones mucocutáneas; sífilis terciaria	Herpes genital recurrente	Bubón inguinal
Tratamiento	Penicilina benzatínica G; si el sujeto es alérgico a ella, recurrir a la doxiciclina	Aciclovir, famciclovir o valaciclovir	Ceftriaxona, azitromicina, eritromicina o ciprofloxacino

[a] *Fuente*: Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010,59 (RR-12):1-116.

[b] Son importantes los estudios en busca de VIH en personas con cuadros que incluyen úlceras en genitales causadas por dichos patógenos.

Dos de las enfermedades de menor frecuencia con esas características, son la lesión inicial del **linfogranuloma venéreo** causada por algunos serotipos de *C. trachomatis* (capítulo 27) y el infrecuente **granuloma inguinal** (donovanosis), causada por *Klebsiella granulomatis*. El linfogranuloma venéreo es un cuadro generalizado que incluye fiebre, malestar general y linfadenopatía; puede mostrar bubones en la ingle. El diagnóstico por lo común se confirma por medio de pruebas serológicas y NAAT, pero en el cultivo del pus aspirado de uno de tales bubones se puede identificar *C. trachomatis*. Algunos laboratorios especializados han creado pruebas múltiples de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para detección simultánea de patógenos que causan úlceras genitales, pero no se les practica ampliamente.

Procedimientos nuevos para diagnosticar sífilis incluyen implantación de algoritmos "invertidos". Esto conlleva el seguimiento de pacientes con una de las pruebas treponémicas más novedosas y sensibles (ELISA más reciente o análisis de quimioluminiscencia) seguidas por pruebas de muestras positivas con un análisis no treponémico del tipo de la prueba de reagina plasmática rápida (RPR, *rapid plasma regin*). Si la RPR es negativa entonces se lleva a cabo un segundo análisis treponémico. Las ventajas para el algoritmo invertido son que permite la automatización de las pruebas, de manera que se elimina la interpretación subjetiva y es más exacta para detectar pacientes con enfermedad temprana o tardía y sífilis latente (véase Tong *et al.*). Otros refieren la desventaja principal de que más pacientes pueden aparecer positivos sin enfermedad que conduciría a *sobretratamiento* inicial o vigilancia médica extensa (véase la revisión de Binnicker).

REFERENCIAS

Binnicker MJ: Which algorithm should be used to screen for syphilis? *Curr Opin Infect Dis* 2012;25:79-85.

Tong ML, Lin LR, Liu LL, *et al.*: Analysis of 3 algorithms for syphilis serodiagnosis and implications for clinical management. *Clin Infect Dis* 2014;58:1116-1124.

INFECCIONES POR *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

CASO 15: TUBERCULOSIS PULMONAR

Un varón de 64 años fue hospitalizado porque en los cinco meses anteriores mostró debilidad progresiva y pérdida ponderal de 13 kilogramos. Mostró también fiebre, escalofríos y tos crónica productiva, con expectoración de esputo amarillento a veces hemoptoico.

El paciente ingería abundantemente bebidas alcohólicas y vivía en una casa de pensión, junto a la taberna que frecuentaba. En los últimos 45 años fumó una cajetilla de cigarrillos diariamente.

El paciente no tenía antecedentes de tuberculosis, ningún registro de reacciones cutáneas para identificar tal enfermedad o anormalidades en las radiografías del tórax, y tampoco una exposición que corroborara la tuberculosis.

Manifestaciones clínicas

La temperatura del enfermo fue de 39 °C, su pulso de 110/lpm, tuvo 32 rpm y su presión arterial fue de 120/80 mmHg. Era una persona delgada. Su dentadura era deficiente, pero el resto de la exploración de cabeza y cuello fue normal. En la exploración del tórax se escucharon innumerables estertores crepitantes en los campos pulmonares inferiores. El resto de su exploración física arrojó datos normales.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El hematocrito del paciente era de 30% (bajo) y el recuento leucocítico era de 9 600 células/μl. Las concentraciones de electrólitos

y la biometría hemática fueron normales. La prueba en busca de anticuerpos contra VIH-1 fue negativa. En una radiografía del tórax se identificaron extensos infiltrados cavitarios en ambos lóbulos superiores. La reacción cutánea de tuberculina fue negativa y también las pruebas cutáneas con antígeno de parotiditis y *Candida* lo cual denotó anergia.

Se obtuvo inmediatamente una muestra de esputo y se realizó una tinción en busca de bacterias acidorresistentes antes del procedimiento de concentración de esputo. En el frotis se identificaron innumerables bacterias acidorresistentes. En el cultivo del esputo descontaminado y concentrado, después de incubarlo 14 días, se identificaron bacterias acidorresistentes; dos días después, por medio de una sonda molecular se detectó *M. tuberculosis*. Las pruebas de susceptibilidad de dicho microorganismo indicaron que era susceptible a isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomicina.

Evolución hospitalaria y tratamiento

El tratamiento del paciente incluyó isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol durante dos meses, seguidas de la administración de isoniazida y rifampicina durante siete meses bajo observación directa dos veces por semana. Los cultivos de esputo de seguimiento no indicaron la presencia de *M. tuberculosis*.

En la hospitalización se colocó al paciente en un cuarto de aislamiento y se le pidió que usara una mascarilla permanentemente. Sin embargo, antes de que se llevaran a cabo ambas medidas, un estudiante de medicina y un residente estuvieron expuestos al contagio de ese paciente. El residente mostró conversión de su reacción cutánea tuberculínica y durante nueve meses recibió profilaxis con isoniazida.

Se hizo un intento para identificar los contactos cercanos del enfermo y se detectó que 34 personas mostraron positividad en las pruebas de tuberculina. A los individuos de 35 años de edad o menores se administró isoniazida con fin profiláctico durante un año, y a los que tuvieron una edad mayor de la mencionada, en forma periódica se practicaron radiografías de tórax de seguimiento. También se diagnosticaron y trataron dos casos de tuberculosis activa. Los aislados de *M. tuberculosis* de los dos pacientes fueron idénticos a la micobacteria del paciente índice, según los datos del método de huella molecular de DNA.

CASO 16: TUBERCULOSIS MILIAR DISEMINADA

Una mujer asiática de 31 años fue hospitalizada con el antecedente de que durante siete semanas había mostrado en forma cada vez más intensa malestar generalizado, mialgias, tos seca y disnea. Todos los días presentaba fiebre de 38 a 39 °C, y en fecha reciente había perdido 5 kg. Recibió una cefalosporina por vía oral, sin beneficio alguno.

Sus antecedentes médicos indicaron que había emigrado de Filipinas a los 24 años y que para esa fecha una radiografía de tórax arrojó resultados negativos. La abuela

(*continúa*)

CASO 16: TUBERCULOSIS MILIAR DISEMINADA (*continuación*)

de la paciente había fallecido de tuberculosis cuando era un bebé; no sabía si había estado en contacto con ella. De niña recibió una vacuna BCG. En la actualidad vivía con parientes que se encargaban del funcionamiento de un refugio para unos 30 adultos de edad avanzada.

Manifestaciones clínicas

La temperatura de la paciente era de 39 °C, su pulso, de 100/lpm, tenía 20 rpm y su presión arterial era de 120/80 mmHg. En la exploración física se detectó aumento significativo de los ganglios linfáticos cervicales y axilares. La auscultación pulmonar no mostró anormalidades. El examinador no fue capaz de palpar el bazo de la paciente; al percutir, el tamaño del hígado era normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

La concentración de hemoglobina de la paciente fue de 8.3 g/100 ml (normal, 12 a 15.5 g/100 ml), y el hematocrito fue de 27% (normal, 36 a 46%). El frotis de sangre periférica indicó la presencia de eritrocitos hipocrómicos, microcíticos, compatibles con infección crónica o anemia ferropénica. El recuento plaquetario señaló 50 000/μl (normal, 140 000 a 450 000/μl). El recuento leucocítico fue de 7 000/μl (normal) y también lo fue el recuento diferencial. Hubo prolongación moderada de los tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial, lo cual sugirió una coagulopatía propia de hepatopatías. Los resultados de las pruebas de función hepática fueron: aspartato aminotransferasa (AST, *aspartate aminotransferase*), 140 unidades/L (normal, 10 a 40 unidades/L); alanina aminotransferasa (ALT *alanine aminotransaminase*), 105 unidades/L (normal, 5 a 35 unidades/L); bilirrubina 2 mg/100 ml (el doble de lo normal), y fosfatasa alcalina, 100 unidades/L (normal 36 a 122 unidades/L). La albumina sérica fue de 1.7 g/100 ml (normal, 3.4 a 5 g/100 ml). Fueron normales las cifras de creatinina, nitrógeno de la urea sanguínea y electrólitos. En los análisis de orina se detectaron pocos eritrocitos y leucocitos. Dos cultivos de sangre hechos de manera sistemática fueron negativos. En los cultivos de esputo y orina proliferó microbiota normal escasa.

Las pruebas serológicas para detectar VIH-1, anticuerpo y antígeno del virus de hepatitis B, coccidioidomicosis, leptospirosis, brucelosis, infección por micoplasmas, enfermedad de Lyme y fiebre Q fueron negativas. La reacción cutánea de tuberculina fue negativa. La radiografía de tórax arrojó resultados normales. También hubo resultados negativos en la CT del abdomen.

Evolución hospitalaria y tratamiento

En los primeros días de su hospitalización, la paciente mostró disnea progresiva e insuficiencia respiratoria. En las radiografías repetidas de tórax se observaron en ambos lados infiltrados intersticiales. Se hizo el diagnóstico del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda del adulto. En ese momento su nivel de hemoglobina era de 10.6 g/100 ml, y el número de leucocitos, 4 900 células/μl. En los gases de sangre arterial se detectaron pH de 7.38, PO_2 de 50 mmHg (cifra baja), y PCO_2 de 32 mmHg.

Se inició la oxigenoterapia y se intubó durante cuatro días a la paciente. Se realizó lavado broncoalveolar (BAL, *bronchoalveolar lavage*) y el líquido no tuvo microorganismos, después del cultivo sistemático, y la tinción para bacterias acidorresistentes también fue negativa. En la segunda CT del abdomen se observó que el hígado tenía aspecto normal pero hubo linfadenopatía periaórtica y esplenomegalia leve. Se emprendió la laparoscopia y se realizó biopsia de hígado y médula ósea.

En las biopsias del hígado y la médula ósea se identificaron granulomas con células gigantes y la presencia de bacilos acidorresistentes. (Las reservas de hierro fueron abundantes, lo cual denotó que la anemia provenía de una infección crónica y no de deficiencia de hierro). Se comenzó la administración de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. En las radiografías de tórax persistió la imagen de infiltrados difusos, pero la mejoría en ellas fue evidente. La fiebre disminuyó y el estado clínico de la paciente también mejoró.

Entre el día 19 y 21 de incubación, las biopsias de hígado y médula ósea y el líquido del BAL mostraron resultados positivos para bacilos acidorresistentes, los que, según la sonda molecular, correspondieron a *M. tuberculosis*. Las micobacterias fueron susceptibles a todos los fármacos que se administraban a la paciente. El régimen con cuatro medicamentos se continuó durante dos meses hasta que se practicaron pruebas de susceptibilidad. Para esa fecha se continuó la administración de isoniazida y rifampicina por 10 meses más, hasta un total de 12 meses de tratamiento.

Se practicaron pruebas cutáneas en busca de tuberculosis a los parientes y a los adultos de edad avanzada que vivían con la paciente. En los sujetos con resultados positivos de las reacciones cutáneas y los que tenían antecedente reciente de tos o pérdida de peso, se practicaron radiografías de tórax. Se identificó a tres personas con tuberculina positiva, pero ninguna tenía tuberculosis activa. Se brindó profilaxia con isoniazida a las personas que vivían en la casa de la paciente, y a aquellas en las que recientemente hubo conversión de su prueba cutánea. Según opiniones de expertos, la paciente de este caso mostró tuberculosis de reactivación con una diseminación hemática que abarcó pulmones, hígado, ganglios linfáticos y posiblemente riñones.

Comentarios

Se ha calculado que a nivel mundial un tercio de la población tiene tuberculosis, y que cada año fallecen por dicha enfermedad de uno a tres millones de enfermos. En Estados Unidos, a mediados de la década de 1980 se observó la más baja incidencia de tuberculosis, que fue de 9.4 por 100 000 personas. A finales de esa década la cifra aumentó poco, pero desde 1992 ha disminuido nuevamente. La tasa más baja de 3.0 casos por 100 000 habitantes (9 582 casos) se registró en 2013, que representaba una disminución de la tasa de 6.1% desde 2012 (http://www.cdc.gov/tb/statistics/default.htm). La tuberculosis en Estados Unidos se presenta más comúnmente en poblaciones con bajo nivel socioeconómico: habitantes pobres en las ciudades, personas sin hogar, trabajadores del campo migrantes, alcohólicos y consumidores de drogas intravenosas, así como en extranjeros. En promedio, la mitad de los casos de la enfermedad se observa en personas de origen extranjero. La incidencia de este trastorno puede ser muy alta en grupos y áreas geográficas precisos (p. ej., en enfermos VIH-positivos que abusan de drogas intravenosas en los estados del este de Estados Unidos, y en pacientes haitianos con sida). La tuberculosis en adultos de edad avanzada por lo común proviene de reactivación de una infección previa, en tanto que la que afecta a niños denota transmisión activa de *M. tuberculosis*. En promedio, 80% de los casos en niños se detectan en minorías étnicas. Sin embargo, la tuberculosis activa se identifica más a menudo en adultos jóvenes, frecuentemente junto con infecciones por VIH-1 y tal coincidencia de las dos infecciones es especialmente importante en países en desarrollo; en África se sabe que millones de personas tienen las dos enfermedades. Existe gran preocupación por la propagación de tuberculosis multirresistente en Rusia.

El contagio de la tuberculosis de un paciente a otra persona se hace por las gotas infectantes generadas durante la tos, el estornudo o al hablar. Factores importantes en dicha transmisión son la cercanía y la duración del contacto y qué tan infeccioso sea el paciente. En términos generales, < 50% de los contactos de casos activos se infecta, tal como se mide por el índice de conversión en pruebas cutáneas de la tuberculina. Por lo regular, los pacientes no son infecciosos dos semanas después de comenzar el tratamiento; una vez infectadas, 3 a 4% de las personas desarrollan tuberculosis activa en los primeros 12 meses, y en promedio, 10% en fecha ulterior. Las edades en las cuales es más frecuente que se genere enfermedad activa son la lactancia, personas de 15 a 25 años y los adultos de edad avanzada.

La **reacción cutánea de la tuberculina** se practica por la inyección intracutánea de cinco unidades de tuberculina (TU, *tuberculin units*) de derivado proteínico purificado (PPD, *purified protein derivative*), por medio de una aguja de calibre 26 o 27. La reacción se lee entre las 48 y las 72 h y es positiva cuando hay induración de 10 mm o más; no se considera que el eritema determine que la prueba sea positiva. De las personas con induración de 10 mm, 90% presenta infección por *M. tuberculosis,* en tanto que esencialmente todas las que tienen una induración mayor de 15 mm están infectadas. Los resultados positivos falsos dependen de la infección por micobacterias no tuberculosas (como *Mycobacterium kansasii*); los resultados negativos falsos dependen de la enfermedad generalizada en tuberculosos, o de inmunodepresión. En vez de la prueba cutánea con tuberculina se pueden **practicar las técnicas de liberación de interferón γ** (capítulo 23); son particularmente útiles para valorar a individuos a los que recientemente se aplicó vacuna BCG (bacilo de Calmette-Guérin). Está aún en fase de investigación el empleo de estas técnicas para detectar tuberculosis en personas inmunocomprometidas o anérgicas.

La infección primaria por *M. tuberculosis* en niños incluye infiltrados en los campos pulmonares medios o inferiores, y en las radiografías de tórax, linfadenopatía hiliar. Los adolescentes y los adultos pueden tener un cuadro similar de infección primaria, pero ella evolucionará rápidamente hasta llegar a **enfermedad cavitaria apical**. En los adultos de edad avanzada, el cuadro inicial de tuberculosis puede ser inespecífico y asumir la forma de neumonía del lóbulo inferior. El surgimiento de enfermedad cavitaria apical sugiere decididamente la presencia de tuberculosis (el diagnóstico diferencial incluye histoplasmosis), pero la tuberculosis puede simular el cuadro de otras enfermedades cuando están infectadas zonas de los pulmones distintas a los vértices. La tuberculosis pulmonar crónica puede ser causada por reactivación de infección endógena o por reinfección exógena.

La **tuberculosis extrapulmonar** afecta a menos de 20% de los pacientes; es más frecuente en enfermos de sida, puede ser muy grave e incluso mortal. El mecanismo más frecuente de propagación es la diseminación hemática en el momento de la infección primaria o con menor frecuencia, de focos pulmonares crónicos o de otros sitios. A veces se observa extensión directa de la infección y su paso a los espacios pleural, pericárdico o peritoneal, porque puede haber diseminación al aparato gastrointestinal si el sujeto deglute secreciones infectadas. En enfermos de sida, a diferencia de otros pacientes, es frecuente que coexistan enfermedades pulmonar y extrapulmonar. Las principales formas extrapulmonares de tuberculosis (en orden descendente de frecuencia, aproximadamente) son: linfática, pleural, genitourinaria, ósea y articular, diseminada, (miliar), meníngea, y peritoneal. Sin embargo *M. tuberculosis* puede infectar a cualquier órgano y hay que incluir a la tuberculosis en el diagnóstico diferencial de otras muchas enfermedades.

Los dos fármacos principales que se utilizan para combatir la tuberculosis son: **isoniazida** (**INH**) y **rifampicina** (**RIF**). Los otros productos de primera línea son **pirazinamida** (**PZA**) y **etambutol (EMB)**. Se cuenta con otros medicamentos de segunda línea, que son más tóxicos o menos eficaces o con ambas características, y se incluyen en el tratamiento sólo si las circunstancias lo justifican (p. ej., ineficacia de los fármacos estándar por farmacorresistencia múltiple). Se cuenta con regímenes aprobados para tratar las formas susceptibles de *M. tuberculosis* en niños y adultos. Casi todos los médicos prefieren esquemas durante seis meses. La fase inicial de un régimen semestral en los adultos debe incluir un periodo de dos meses a base de INH, RIF, PZA y EMB. Un procedimiento óptimo es la terapia con observación directa y vigilancia durante cinco días a la semana. La fase de continuación del tratamiento debe incluir INH y RIF durante un mínimo de cuatro meses; tal fase debe ampliarse a tres meses más en individuos que en la primera radiografía de tórax o en la de seguimiento presentaron cavidades y cultivos positivos en la fecha de terminación de la fase inicial del tratamiento (dos meses).

Se recomienda que el tratamiento dure nueve meses si es imposible incluir PZA en el régimen inicial o si se detecta que el microorganismo aislado es resistente a ese fármaco. En los primeros dos meses el tratamiento incluirá INH, RIF y EMB y después INH y RIF durante siete meses, todos los días o dos veces por semana. Factores importantes en la selección de fármacos apropiados y para definir la duración del tratamiento son la susceptibilidad de los microorganismos o su resistencia a la INH y la RIF. En individuos que no colaboran es importante un tratamiento supervisado.

REFERENCIAS

American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention, and Infectious Diseases Society of America: Treatment of tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52(RR11):1.

Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for use of isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1650.

Centers for Disease Control and Prevention. Reported tuberculosis in the United States, 2010. http://www.cdc.gov/tb/statistics/reports/2010/pdf/report2010.pdf.

LoBue P: Extensively drug-resistant tuberculosis. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:167.

Yew WW, Sotgiu G, Migliori GB. Update in tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease 2010. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:180.

COMPLEJO DE *MYCOBACTERIUM AVIUM*

CASO 17: INFECCIÓN DISEMINADA POR EL COMPLEJO DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* (MAC)

Un varón de 44 años acudió a la clínica con el antecedente de haber presentado fiebre intermitente durante varias semanas, acompañada en ocasiones de escalofríos. Con frecuencia cada vez mayor presentó defecaciones sin diarrea franca, pero a veces con cólicos y dolor abdominal. No tenía cefalea y tos. Había perdido unos 5 kg; el resto de la anamnesis y antecedentes era negativo.

Diez años antes de la enfermedad actual, las actividades que realizaba lo colocaron en peligro de que se contagiara de VIH. Nunca se sometió a pruebas de laboratorio.

Manifestaciones clínicas

La temperatura del paciente era de 38 °C, su pulso, de 90/lpm, 18 rpm y su presión arterial era de 110/70 mmHg. Su aspecto no era de gravedad inmediata. Se palpaba en el cuadrante izquierdo superior del abdomen el extremo del bazo a 3 cm por debajo de las costillas (que sugería esplenomegalia). No se detectaron hepatomegalia, linfadenopatía, signos neurológicos ni meníngeos. La impresión de la exploración física general fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El recuento leucocítico era estable, con una cifra de 3 000 células/μl (menor de lo normal). El hematocrito era de 29% (menor de lo normal). El recuento de linfocitos T cooperadores-inductores CD4 fue de 75 células/μl, (cifra normal, 425 a 1650/μl).

La química sanguínea solamente fue notable por la concentración de fosfatasa alcalina del hígado de 210 unidades/L (cifra normal, 36 a 122 unidades/L). Al investigar más la causa de la fiebre se observó que sus análisis de orina eran normales, en hemocultivos sistemáticos no hubo proliferación de microorganismos y la radiografía del tórax fue normal. La prueba del antígeno criptococócico en suero fue negativa. Se practicaron dos hemocultivos en busca de micobacterias que se tornaron positivos 10 y 12 días después de la obtención de la sangre. Tres días después, se identificó por medio de sonda molecular, una micobacteria del complejo *M. avium* (MAC, *M. avium complex*).

El paciente se probó utilizando inmunoanálisis de cuarta generación con VIH1/2 que incorpora pruebas combinadas de anticuerpo/antígeno. El análisis fue positivo y se llevó a cabo

una prueba de carga viral con RT-PCR refleja, en que el valor era elevado en 300 000 copias/ml.

Tratamiento y seguimiento

Se inició un régimen con tres fármacos contra MAC: claritromicina, etambutol y ciprofloxacino. El enfermo percibió una sensación de bienestar cada vez mayor, tuvo una disminución notable de la fiebre y los sudores profusos, y su apetito mejoró. En forma concomitante se comenzó el **tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART; *highly active antiretroviral therapy*)**. Los fármacos eran efavirenz, tenofovir y emtricitabina (tres inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa) formulados en un solo comprimido. Cuatro meses después de comenzar la terapia con antirretroviral, la prueba de carga viral con RNA del VIH señaló que casi no se detectaban las partículas; el número de linfocitos T CD4 fue de 250 células/μl.

Comentarios sobre la infección por VIH-1 y sida

En forma típica, el periodo de incubación desde la exposición hasta el comienzo de la enfermedad aguda por VIH-1 es de dos a cuatro semanas. Casi todos los individuos presentan un cuadro agudo que dura de 2 a 6 semanas y sus signos y síntomas más frecuentes son fiebre (97%), adenopatía (77%), faringitis (73%), exantemas (70%) y mialgias o artralgias. La erupción es eritematosa y no pruriginosa e incluye lesiones maculopapulosas (poco elevadas), de 5 a 10 mm de diámetro, por lo común en la cara y en el tronco, que pueden aparecer en las extremidades, las palmas y las plantas, o generalizarse. Las úlceras en la boca son un signo característico de la infección primaria por VIH. Se ha descrito al cuadro agudo como "similar a la mononucleosis", pero constituye un síndrome por sí mismo.

En término de dos semanas después de la infección primaria surgen anticuerpos IgM contra VIH-1 y anteceden a la aparición de anticuerpos IgG, que se detectan en término de otras semanas más. Uno de los puntos por lo que mayor preocupación sienten los bancos de sangre es detectar el RNA del VIH-1 en fase inicial de la infección, para impedir que se transfunda sangre sin anticuerpos, pero con VIH-1.

El sida es la complicación principal de la infección por VIH. De acuerdo con los CDC, se define como cuenta celular de CD4 de menos de 200 células/μl o presencia de infecciones oportunistas serias, neoplasmas u otras manifestaciones que ponen en peligro la vida relacionadas a cuenta de CD4. En el cuadro 48-7 se incluyen las infecciones que definen al sida. Los tumores que definen el sida comprenden el linfoma primario del cerebro, el linfoma de Burkitt o inmunoblástico y el carcinoma cervicouterino invasor en mujeres, además del sarcoma de Kaposi. Otros cuadros que definen al sida son la encefalopatía por VIH-1 con deterioro de las funciones cognitiva y motora y la enfermedad consuntiva por el mismo virus (pérdida de peso mayor de 10% y en el curso de un mes, diarrea o debilidad y fiebre).

El cuadro inicial de sujetos infectados por VIH-1 incluye signos y síntomas provenientes de uno o más órganos y sistemas. Las infecciones oportunistas frecuentes se incluyen según su sitio anatómico en el cuadro 48-8. En forma típica, la valoración de pacientes que pueden tener infección por VIH-1 o sida se basa en los antecedentes clínicos y epidemiológicos de posible exposición, junto con la valoración diagnóstica de la enfermedad inicial, según el sitio afectado.

Los conocimientos en relación con la farmacoterapia contra VIH cambian con gran rapidez, y por esa razón, las recomendaciones sobre el tratamiento deben ser consideradas como provisionales. La profilaxis después de la exposición, a base de fármacos contra VIH, es eficaz y el tratamiento de la infección primaria por el virus pudiera tener consecuencias pronósticas favorables. Muchos factores influyen en la decisión de comenzar tratamiento anti-VIH, incluida la tasa de disminución de la cuenta celular de CD4 y la concentración hemática de VIHRNA. Los medicamentos usados para combatir la infección por el virus se exponen en el capítulo 30. Se puede elegir una variedad de tratamientos. El tratamiento antirretroviral es altamente eficaz y ha mejorado significativamente la vida y el pronóstico de muchos enfermos de sida. La respuesta al tratamiento debe revisarse en forma seriada por seguimiento de la carga viral y también por pruebas de resistencia cuando la respuesta clínica es insatisfactoria. Si el número de linfocitos CD4 es menor de 200 células/μl, conviene emprender la profilaxis contra la infección por *P. jirovecii*. Las medidas preventivas contra otras infecciones oportunistas (cuadro 48-7) también pueden ser convenientes.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention: Detection of Acute HIV infection in two evaluations of a new HIV diagnostic testing algorithm—United States, 2011-2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013; 62:489.

Drugs for HIV infection. *Med Lett* 2014;12(138):7.

Gunthard HF, Aberg JA, Eron JJ, *et al.*: Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society—USA panel. *JAMA* 2014;312:410.

Selik RM, Mokotoff ED, Branson B, *et al.*: Revised surveillance case definition for HIV infection—United States, 2014. *MMWR Recomm Rep* 2014;63:1.

Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE, Hammer SM: The challenge of HIV-subtype diversity. *N Engl J Med* 2008;358:1590.

INFECCIONES EN RECEPTORES DE TRASPLANTE

CASO 18: TRASPLANTE DE HÍGADO

A un varón de 61 años se sometió a trasplante ortotópico de hígado por cirrosis causada por hepatitis crónica C (HCV, *hepatitis C virus*). Se contagió de HCV por una transfusión de sangre durante una operación de derivación coronaria 10 años antes de que mostrara la hepatopatía; esta última fue diagnosticada dos años antes del trasplante ortotópico de hígado, cuando presentó hemorragia por varices esofágicas. Se logró la hemostasia, pero el paciente más tarde presentó ascitis y encefalopatía de origen hepático

(*continúa*)

CUADRO 48-7 Resumen de infecciones que definen al sida, tratamiento y profilaxia

Infección que define al sida	Tipo de infección	Tratamiento	Profilaxia o tratamiento de sostén
Virus			
Citomegalovirus	Retinitis, colitis, esofagitis, neumonía y viremia	Valganciclovir por vía oral e implante intraocular de ganciclovir (retinitis); ganciclovir, foscarnet y famciclovir intravenoso (oral y genital)	Ganciclovir oral o intravenoso
Virus de Epstein-Barr	Linfomas no- Hodgkin de células B de alto grado	Citotóxicos en dosis altas después de HAART	
Herpes simple	Úlceras cutáneas, orofaríngeas o bronquiales; proctitis	Aciclovir, foscarnet	Aciclovir, famciclovir, valaciclovir
Virus JC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva		
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes que surge en el sarcoma de Kaposi)	Sarcoma de Kaposi		
Bacterias			
Complejo de *Mycobacterium avium*	Diseminada o extrapulmonar	En términos generales se utilizan 2 a 4 medicamentos: claritromicina o azitromicina, etambutol o rifabutina, o ciprofloxacino, o rifampicina	Claritromicina o azitromicina
Mycobacterium kansasii, y otras bacterias no tuberculosas	Diseminada o extrapulmonar	Con base en los perfiles de susceptibilidad establecidos	
Mycobacterium tuberculosis	Cualquier sitio: pulmonar, linfadenitis o diseminada	Isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol (y otros fármacos con base en los resultados de prueba de susceptibilidad), durante dos meses; continuar con isoniazida y rifampicina durante cuatro meses más, como mínimo	Evitar la transmisión por medio de prácticas satisfactorias de erradicación de infecciones; isoniazida en caso de que la prueba cutánea de la tuberculina sea positiva con un diámetro de ≥5 mm
Infecciones bacterianas piógenas recurrentes	Dos episodios o más en término de dos años y si la persona tiene menos de 13 años de vida; ≥2 episodios de neumonía en un año en personas de cualquier edad: *Streptococus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae,* y otros estreptococos, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*	Con arreglo a cada especie	
Especies de *Salmonella*	Bacteriemia	Cefalosporinas de la tercera generación, ciprofloxacino	Ciprofloxacino
Pneumocystis jirovecii	Neumonía	Trimetroprim-sulfametoxazol; isetionato de pentamidina, trimetrexato más leucovorina con dapsona o sin ella; clindamicina más primaquina	Trimetroprima-sulfametoxazol; dapsona con pirimetamina o sin ella y además leucovorina; isetionato de pentamidina en aerosol y atovacuona
Hongos			
Candida albicans	Esofagitis, traqueobronquitis; también afectación orofaríngea y vaginitis	Anfotericina B, fluconazol y otros fármacos	Fluconazol
Cryptococcus neoformans	Meningitis diseminada; también ataque pulmonar	Anfotericina B y flucitosina, fluconazol y flucitosina	Fluconazol
Histoplasma capsulatum	Formas extrapulmonares y pulmonares también	Anfotericina B, itraconazol	Itraconazol
Coccidioides immitis	Ataque extrapulmonar y también pulmonar	Anfotericina B	Itraconazol o fluconazol orales

(*continúa*)

CUADRO 48-7 Resumen de infecciones que definen al sida, tratamiento y profilaxis (*continuación*)

Infección que define al sida	Tipo de infección	Tratamiento	Profilaxia o tratamiento de sostén
Protozoos			
Toxoplasma gondii	Encefalitis diseminada	Pirimetamina más sulfadiazina y leucovorina; pirimetamina y clindamicina, más ácido fólico	Trimetroprim-sulfametoxazol o pirimetamina-dapsona; atovacuona con pirimetamina o sin ella más leucovorina
Cyptosporidium	Diarrea durante un mes o menos	HAART eficaz puede originar respuesta clínica; nitazoxanida, paromomicina	
Especies de *Isospora*	Diarrea durante un mes o menos	Trimetroprim-sulfametoxazol	Trimetroprim-sulfametoxazol

CUADRO 48-8 Complicaciones frecuentes en personas con infección por VIH

Sitio	Complicación y origen	Comentario
General	Linfadenopatía generalizada progresiva	Aparece en 50 a 70% de personas después de la infección primaria por VIH; es importante diferenciar el cuadro de otras muchas enfermedades que ocasionan linfadenopatía
Sistema nervioso	Encefalopatía por VIH; demencia del sida	Amnesia de hechos recientes; dificultad para organizar actividades diarias; falta de atención
	Toxoplasmosis cerebral; *Toxoplasma gondii*	Es común la afectación multifocal del cerebro y origina formas muy diversas de enfermedad clínica: alteración del estado mental, convulsiones, debilidad motora, anormalidades sensitivas, disfunción del cerebelo, etc.
	Meningitis por Cryptococcus; *Cryptococcus neoformans*	El comienzo suele ser insidioso e incluye fiebre, cefalea y malestar general
	Leucoencefalopatía multifocal progresiva; virus JC	Los déficit neurológicos focales se manifiestan en un periodo de semanas
	Citomegalovirus	Encefalitis, polirradiculopatía, mononeuritis múltiple
	Linfoma primario del sistema nervioso central	Los déficit neurológicos focales se manifiestan en un lapso de días a semanas
Ojos	Citomegalovirus	Retinitis
Piel	Sarcoma de Kaposi: virus herpético humano 8 (virus herpético asociado con el sarcoma de Kaposi)	Nódulos cutáneos firmes y palpables de 0.5 a 2 cm de diámetro; en el comienzo pueden ser de menor tamaño y más tarde confluir y formar grandes masas tumorales; su color típicamente es violáceo; en personas de piel oscura pueden mostrar hiperpigmentación; puede abarcar muchos órganos y sistemas
	Foliculitis por estafilococos: *Staphylococcus aureus*	Infección de los folículos pilosos, de la zona central del tronco, la ingle o la cara
	Herpes zóster: virus de varicela-zóster	Vesículas sobre una base eritematosa, distribuidas por dermatomas
	Úlceras herpéticas: virus del herpes simple	Vesículas agrupadas sobre una base eritematosa que evolucionan rápidamente y se transforman en úlceras; por lo común en la cara, las manos y los genitales
	Angiomatosis bacilar: *Bartonella henselae, Bartonella quintana*	Pápula roja cada vez más grande, y en su alrededor eritema; imagen clínica similar a la del sarcoma de Kaposi aunque su estructura histológica es muy diferente
	Molusco contagioso	Pápulas o nódulos de color carne, perlados, como una semiesfera, circunscritos y a menudo umbilicados. Por lo común aparecen en la línea de la barba. En sujetos con VIH puede ocurrir infección intensa y duradera
Boca	Candidosis de la boca: *Candida albicans*	Zonas lisas rojizas de los paladares blando o duro; puede formar seudomembranas
	Tricoleucoplasia: probablemente por virus de Epstein-Barr	Engrosamiento de la mucosa de la boca, a menudo con pliegues o arrugas verticales

(*continúa*)

CUADRO 48-8 Complicaciones frecuentes en personas con infección por VIH (*continuación*)

Sitio	Complicación y origen	Comentario
Boca	Gingivitis o periodontitis	Encías muy rojas: úlceras necrosantes alrededor de los dientes
	Úlceras de la boca: por virus de herpes simple, varicela-zóster, citomegalovirus y otros agentes infecciosos	El cuadro inicial puede incluir vesículas recidivantes que forman úlceras
	Sarcoma de Kaposi	Lesiones de color rojo, violeta muy a menudo en el paladar
Aparato gastrointestinal	Esofagitis: *Candida albicans*, citomegalovirus y del herpes simple	El cuadro inicial incluye dificultad y dolor en la deglución
	Gastritis: citomegalovirus	Náusea, vómito, saciedad prematura, anorexia
	Enterocolitis: por *Salmonella, Cryptosporidium, Isospora,* microsporidios, *Giardia, Entamoeba histolytica* y otros agentes más	Cuadro muy frecuente; diarrea, cólicos, dolor abdominal
	Proctocolitis por *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Campylobacter*, herpes simple, citomegalovirus	Dolor en el recto
Pulmones	Neumonía intersticial o con consolidación: muchos tumores y especies de bacterias, hongos, virus y protozoos pueden causar una neumopatía en pacientes infectados con VIH	El comienzo puede ser lento o rápido, con fiebre, tos y disnea; el diagnóstico suele corroborarse con broncoscopia con lavado broncoalveolar
Aparato genital	Candidosis vaginal: *Candida albicans*	Secreción anormal similar a requesón con enrojecimiento y prurito en vulva. Frecuente en mujeres infectadas de VIH
	Verrugas genitales: virus de papiloma humano	Puede ser grave en sujetos infectados por VIH
	Carcinoma cervicouterino invasor: virus de papiloma humano	Células atípicas en prueba de Papanicolaou emergen de repente e incluyen carcinoma cervical en mujeres; cáncer rectal en varones
	Enfermedad inflamatoria pélvica	Más frecuente e intensa en mujeres infectadas por VIH que en otras
	Herpes genital: virus de herpes simple	Suele ser recurrente y más intensa en personas infectadas con VIH que en otros sujetos
	Sífilis: *Treponema pallidum*	La sífilis es una enfermedad mucho más progresiva en personas infectadas por VIH que en otras; su presencia puede acelerar la evolución de la sífilis del sistema nervioso

CASO 18: TRASPLANTE DE HÍGADO (*continuación*)

que se pudo controlar poco con medidas farmacológicas. El paciente también tenía diabetes insulinodependiente. En el momento de su valoración inicial cuatro meses antes del trasplante, los resultados de sus pruebas de función hepática incluyeron AST, 43 unidades/L (normal, 10 a 40 unidades/L); ALT, 42 unidades/L (normal, 36 a 122 unidades/L); bilirrubina, 2.9 mg/100 ml (normal, 0.1 a 1.2 mg/100 ml), albúmina, 2.6 g/100 ml (normal, 3.4 a 5 g/100 ml), y prolongación del tiempo de protrombina, de 1.8 de la Razón Internacional Normalizada (INR, *International Normalized Ratio*). El anticuerpo anti-HCV fue identificado por medio del enzimoinmunoanálisis. El genotipo del virus era de tipo 1. El paciente no mejoró con la combinación de interferón-α y ribavirina después de 12 meses. Las cuantificaciones de la carga viral llegaron a 500 000 UI/ml.

En el ejemplo señalado, el trasplante ortotópico de hígado se logró sin problemas. La reconstrucción de vías biliares se hizo por coledococoledocostomía (anastomosis primaria del colédoco del donador al del receptor), y colocación de una sonda en T para drenaje externo de la bilis durante la cicatrización de la anastomosis. Al explorar el hígado extirpado se identificó por casualidad un carcinoma hepatocelular. Se comenzó la administración endovenosa de tacrolimús (para disminuir el rechazo) en goteo continuo durante 24 h, y corticoesteroides para inmunodepresión (también para evitar el rechazo). La presentación intravenosa del tacrolimús se cambió a la vía oral el segundo día. Se comenzó a administrar por vía intravenosa ganciclovir en el primero al séptimo días, para evitar la infección por citomegalovirus (hepatitis y neumonía); una vez que se interrumpió el uso del ganciclovir, se emprendió la administración del mismo fármaco en altas dosis por vía oral, cuatro veces al día durante tres meses, como una estrategia continua de profilaxis contra la infección por el virus mencionado. También, como medida profiláctica contra la neumonía por *Pneumocystis* se emprendió la administración de trimetoprim-sulfametoxazol por vía oral, dos veces por semana.

La función del aloinjerto se reanudó inmediatamente después del trasplante. En el séptimo día, su AST fue de 40

unidades/L, la fosfatasa alcalina, de 138 unidades/L (normal, 36 a 122 unidades/L), y la bilirrubina, de 6.2 mg/100 ml. El diagnóstico diferencial de las anormalidades de la función hepática incluyó la lesión durante la fase de conservación del órgano, entre la donación y el trasplante, trombosis de la arteria hepática y en raras ocasiones, hepatitis por herpes simple. La biopsia del hígado en el séptimo día señaló daño durante la fase de conservación.

El enfermo fue dado de alta el día 12 y en ese momento recibía tacrolimús y prednisona por vía oral, para evitar el rechazo. En el día 21, la biopsia de hígado no señaló signos de rechazo celular y las pruebas de función hepática fueron excelentes: AST, 18 unidades/L, fosfatasa alcalina, 96 unidades/L, y bilirrubina, 2 mg/100 ml. La concentración de creatinina sérica fue 2.2 mg/100 ml (normal, 0.5-1.4 mg/100 ml) y se disminuyó la dosis de tacrolimús oral. El día 28, los resultados de las pruebas de función hepática se elevaron: AST, 296 unidades/L, fosfatasa alcalina, 497 unidades/L y bilirrubina, 7 mg/L. El diagnóstico diferencial de la función anormal del hígado fue rechazo celular agudo y obstrucción de vías biliares. Existía la posibilidad de hepatitis por citomegalovirus, pero tal situación por lo común aparece después del día 35, y se había dado profilaxis contra dicho virus. La biopsia de hígado indicó rechazo celular agudo.

El tratamiento en ese momento incluyó dos dosis intravenosas de metilprednisolona y después prednisona por vía oral. La concentración sanguínea de tacrolimús estaba dentro de límites terapéuticos. La biopsia de hígado de seguimiento, dos semanas más tarde, indicó mínimos cambios grasos, pero no rechazo. La AST era de 15 unidades/L, fosfatasa alcalina 245 unidades/L y bilirrubina 1.6 mg/100 ml.

Un mes después, 2.5 meses después del trasplante, la AST aumentó de nuevo a 155 unidades/L, pero no cambió la fosfatasa alcalina y se mantuvo en 178 unidades/L. En la biopsia se observó moderado cambio graso, necrosis lobular de hepatocitos e inflamación porta leve compatible con una infección por hepatitis C después del trasplante o rechazo en fase de resolución. No se practicó la reacción en cadena de la polimerasa para el RNA del HCV porque habría sido positiva y poseía escaso valor pronóstico. La impresión clínica fue de hepatitis C recurrente. Se continuó la administración de tacrolimús y prednisona. En el curso del mes siguiente se normalizaron las pruebas de función hepática.

Seis meses después del trasplante se extrajo la sonda en T del sistema de drenaje de bilis. Inmediatamente el enfermo sintió dolor intenso y difuso en el abdomen. En el cultivo de la bilis proliferaron *E. coli* y *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina. La impresión clínica fue que se había producido derrame de bilis en el interior del abdomen. El paciente recibió ceftriaxona y linezolida. Se practicó colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (ERCP, *endoscopic retrograde cholangiopancreatography*) con esfinterotomía para mejorar el flujo de bilis. Se dio de alta al paciente dos días después.

Ocho meses después del trasplante, el paciente presentó edema subcutáneo generalizado (anasarca) y exantema en una extremidad inferior. Los resultados de las pruebas de función hepática fueron moderadamente anormales. El hematocrito y el recuento leucocítico fueron normales. El nitrógeno ureico en sangre fue de 54 mg/100 ml (normal, 10 a 24 mg/100 ml) y su creatinina sérica fue 2.8 mg/100 ml (normal, 0.6 a 1.2 mg/100 ml). En el análisis de orina hubo 4+ de proteína y más de 50 eritrocitos por campo de alto poder. En la biopsia de piel se observó vasculitis leucocitoclástica. Se diagnosticó crioglobulinemia.

Cuatro años después del trasplante, los resultados de las pruebas de función hepática permanecieron normales, con excepción de incrementos leves e intermitentes de AST y ALT. Las biopsias de hígado de seguimiento han indicado cambios grasos moderados a intensos con leve inflamación portal mononuclear. El enfermo continúa con diabetes insulinodependiente. Su función renal es moderadamente anormal y su creatinina sérica es de 1.4 mg/100 ml, en promedio. Su calidad de vida es buena. En la actualidad se mantiene con tacrolimús y prednisona. En comparación con otros receptores de trasplante de hígado, el paciente de este caso está expuesto a un mayor peligro de presentar cirrosis y de perder el injerto.

Comentario

Las personas a quienes se trasplanta un órgano presentan las infecciones más importantes y letales en los primeros meses después de dicho procedimiento. Los factores que existían antes del injerto pueden ser importantes. La enfermedad subyacente puede contribuir a la susceptibilidad a la infección. Es posible que la persona no tenga inmunidad específica (quizá nunca se expuso al contagio con citomegalovirus), pero el órgano trasplantado pudiera provenir de un donante que tuvo dicho virus, o se podría transmitir por transfusión sanguínea. El enfermo puede tener una infección latente que se torne activa en el periodo de inmunodepresión después del trasplante; entre los ejemplos están infecciones por virus de herpes simple, varicela-zóster, citomegalovirus y otros, incluyendo tuberculosis. Es posible que el sujeto recibiera inmunodepresores antes del trasplante.

Un factor importante que rige la aparición de infección es el tipo de trasplante: hígado, corazón, pulmón, riñón, etc. La duración y complejidad del método operatorio también son importantes. Las infecciones tienden a afectar el órgano injertado o guardan relación con él. En el caso del trasplante de hígado la cirugía es compleja y dura varias horas. El tipo de drenaje de bilis que se logre es un factor determinante de la infección abdominal. La conexión directa de las vías biliares del donante con el intestino delgado del receptor (coledocoyeyunostomía) predispone a una infección de vías biliares en mayor grado de lo que ocurre con la conexión de las vías biliares del donador con las vías biliares existentes del receptor (coledococoledocostomía). Los receptores de trasplante de hígado cuya cirugía dura 5 a 10 h en promedio, tienen un episodio de infección después del trasplante, en tanto que aquellos en quienes la operación dura más de 25 h presentarán, en promedio, tres episodios de infección. Los receptores de trasplante de hígado cuya cirugía dura de 5 a 10 h tiene en promedio un episodio de infección postrasplante, comparado con quienes su cirugía dura más de 25 h y tienen en promedio tres episodios. Los receptores de trasplante de hígado están predispuestos a desarrollar hepatitis y neumonía por citomegalovirus. Los receptores de corazón-pulmones están propensos a padecer neumonía por citomegalovirus. El ganciclovir administrado en los comienzos del periodo posterior al trasplante es eficaz para disminuir el impacto de la enfermedad por citomegalovirus después del injerto. Otros fármacos que se

usan frecuentemente para evitar la infección después del trasplante incluyen: aciclovir contra el herpes simple y la varicela-zóster; trimetoprim-sulfametoxazol contra la neumonía por *Pneumocystis*; anfotericina B u otros antimicóticos contra micosis y en particular candidosis y aspergilosis; isoniazida contra la tuberculosis y una cefalosporina de tercera generación u otros antibióticos contra infecciones bacterianas. Es frecuente que antes de la operación, durante ella y poco después, se administren antibióticos para evitar infecciones de la herida quirúrgica y otras que guardan relación directa con el procedimiento.

El tratamiento con inmunodepresores en receptores de trasplante también predispone a infecciones. Los corticoesteroides en dosis altas que se usan para evitar el rechazo o la enfermedad de injerto contra hospedador inhiben la proliferación de linfocitos T, la inmunidad que depende de linfocitos T y la expresión de los genes de citocina, y ejercen efectos importantes en la inmunidad celular, la formación de anticuerpos y la inflamación. La administración de dosis altas de corticoesteroides hace que los pacientes fácilmente presenten micosis y otras infecciones. La ciclosporina, un péptido y el tacrolimús, un macrólido, actúan en la función de los linfocitos T para evitar el rechazo. También se utilizan otros medicamentos inmunodepresores y el suero antilinfocítico. En forma global, los fármacos inmunodepresores preparan el terreno para que surjan infecciones en los receptores de trasplantes.

El caso 19 (más adelante) corresponde a una persona a quien se trasplantó médula ósea e incluye comentarios sobre las infecciones que aparecen en dicha situación.

REFERENCIAS

Fishman JA, Issa NC: Infection in organ transplantation. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:273.

Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, *et al.*: Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2011;52:e56-93.

CASO 19: TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

Un varón de 30 años con leucemia mielógena crónica se sometió a trasplante alógeno de médula ósea obtenida de un hermano donador con compatibilidad de antígeno leucocítico humano (HLA, *human leukocyte antigen*). Antes del trasplante, se le aplicó radiación corporal total y recibió dosis altas de ciclofosfamida para destruir de manera permanente las células de leucemia, las hematopoyéticas y las linfoides.

La primera complicación infecciosa surgió 10 días después del trasplante, antes de que se aceptara el injerto. El paciente tuvo mucositis, enteritis y neutropenia profunda y su recuento de leucocitos fue de 100 células/μl (normal, 3 400 a 10 000 células/μl). Recibía con fin profiláctico ceftazidima, fluconolazol, aciclovir y trimetroprim/sulfametoxazol. Sin embargo, presentó fiebre de 39 °C y su aspecto era de enfermo. La impresión clínica fue probable septicemia bacteriana vinculada con la neutropenia, y el origen posible era en la cavidad bucal o el aparato gastrointestinal. Otra posibilidad fue que la infección provenía del catéter central utilizado para su tratamiento intravenoso. También existía la posibilidad de una enfermedad micótica por *Candida* en la sangre o neumonía por *Aspergillus*; sin embargo, las infecciones mencionadas por lo común aparecen más adelante, después del trasplante alógeno de médula ósea. Poco después del trasplante se había comenzado la administración de ciclosporina y prednisona en dosis pequeñas, para evitar la enfermedad de injerto contra hospedador, que lo hubiera predispuesto a infecciones por otros oportunistas, pero también existía una menor posibilidad de que surgiera en las primeras semanas después del trasplante.

En el décimo día después del trasplante su cuadro empeoró, y se pensó que tenía una infección bacteriana. Se practicó hemocultivo, y la antibioticoterapia protectora contra gramnegativos se cambió de ceftazidima a meropenem. Se agregó vancomicina mientras se obtenían los resultados del hemocultivo. El fluconazol se cambió a voriconazol. En el día 12 se señaló que en el hemocultivo de sangre se habían identificado estreptococos viridans. El enfermo mejoró, y se continuó la antibioticoterapia hasta que el número de leucocitos aumentó a más de 1 000 células/μl.

Treinta días después del trasplante, se dio de alta al paciente para atención domiciliaria. Se había logrado la aceptación del injerto y no existía neutropenia, pero recibía ciclosporina y prednisona para la enfermedad de injerto contra hospedador leve.

Sesenta días después del trasplante, el sujeto presentó fiebre, náusea, dolor epigástrico intenso y diarrea. La impresión clínica fue de enteritis por citomegalovirus o empeoramiento de la enfermedad de injerto contra hospedador que afectaba al tubo digestivo. Entre los días treinta y sesenta poco a poco se habían disminuido las dosis de ciclosporina y prednisona, en la medida en que se había estabilizado su enfermedad de injerto contra hospedador. En el día 60, el sujeto fue hospitalizado y se hizo una endoscopia del tubo digestivo superior e inferior. Se identificaron lesiones de la mucosa compatibles con una infección por citomegalovirus y se tomaron muestras para biopsia. En el estudio histológico se identificaron grandes cuerpos de inclusión intranucleares compatibles con una infección por citomegalovirus. Los cultivos fueron positivos para citomegalovirus. Se administró ganciclovir y el paciente se recuperó de su trastorno.

La evolución del enfermo fue satisfactoria hasta el día 120, en que surgieron anormalidades en los resultados de sus pruebas de función hepática, y diarrea. Por colonoscopia se hizo el diagnóstico de empeoramiento en la enfermedad de injerto contra hospedador. Se aumentaron las dosis de ciclosporina y prednisona.

En el día 150 después del trasplante, el paciente desarrolló fiebre y tos y se detectaron múltiples infiltrados pulmonares. El diagnóstico más probable era neumonía micótica, tal vez por alguna especie de *Aspergillus,* aunque también existía la posibilidad de ataque por *P. jiroveci* y neumonía viral. Se practicó broncoscopia con lavado y obtención de fragmentos transbronquiales para biopsia. En el cultivo del tejido para biopsia proliferó *Aspergillus fumigatus*. El paciente fue tratado con voriconazol. La terapia en cuestión se continuó durante dos semanas en el

hospital y después diariamente en forma ambulatoria durante tres semanas más; también se disminuyeron las dosis de ciclosporina y prednisona.

En el día 300, el paciente no tenía infecciones oportunistas. Su enfermedad de injerto contra hospedador cedió y poco a poco se disminuyeron las dosis de ciclosporina y prednisona hasta interrumpir el uso de ambos fármacos. Su leucemia mielógena crónica permaneció en estado de remisión. Volvió a trabajar tiempo completo 330 días después del trasplante de médula ósea.

Comentario

Las personas a quienes se injerta médula ósea reciben quimioterapia y radioterapia de ablación para destruir sus sistemas hematopoyético e inmunitario. El resultado es la neutropenia profunda y anormalidades de la inmunidad celular hasta que la médula ósea es aceptada. A causa de la neutropenia, los receptores de trasplante de médula ósea están expuestos en particular a un elevado peligro de infecciones, en comparación con pacientes que reciben órganos sólidos y que no muestran neutropenia. Los receptores de trasplante alógeno de médula ósea también están expuestos al peligro de enfermedad de injerto contra hospedador, situación que no se observa en individuos en quienes se practica trasplante autólogo de médula ósea (es decir, reciben su propia médula ósea o hematoblastos obtenidos previamente). El tratamiento inmunodepresor que se utiliza para controlar la enfermedad de injerto contra hospedador también crea un terreno en que los enfermos están expuestos al gran peligro de presentar infecciones.

En la figura 48-1 se señalan las infecciones y los momentos en que posiblemente aparezcan. En el primer mes después del trasplante, antes de que sea aceptado, se advierte neutropenia profunda y daño de las superficies mucosas, por la quimioterapia y la radioterapia previas al trasplante. Los enfermos están expuestos al máximo riesgo de infecciones por bacterias gramnegativas y grampositivas que suelen ser parte de la microbiota normal de la piel, y de los aparatos gastrointestinal y respiratorio. Para esa fecha también se observan las infecciones recurrentes por virus de herpes simple.

En el segundo y el tercer mes después de que ha sido aceptado el injerto, persiste la deficiencia de la inmunidad humoral y celular; tal deficiencia es más grave y persistente en individuos con enfermedad de injerto contra hospedador. Las infecciones principales son neumonía intersticial (en promedio, la mitad de los casos son causados por citomegalovirus), la neumonía por *Aspergillus*, bacteriemia, candidemia e infecciones respiratorias virales.

Después de tres meses del trasplante, se recupera poco a poco la inmunidad humoral y la celular; tal reconstitución tarda uno a dos años y puede mostrar deficiencia notable por la aparición de la enfermedad de injerto contra hospedador crónica. Los sujetos están en peligro de infecciones por virus de varicela-zóster y otras de las vías respiratorias, por lo común por bacterias encapsuladas como *S. pneumoniae* (capítulo 14) y *H. influenzae* (capítulo 18).

Los antimicrobianos profilácticos se utilizan sistemáticamente en los receptores de trasplante de médula ósea. Se administra durante seis meses, trimetroprim/sulfametozaxol o por el tiempo que dura la inmunodepresión, para evitar la neumonía por *P. neumocystis*. El aciclovir se administra desde el momento del trasplante hasta que es aceptado por el organismo, para evitar la infección por herpes simple. El ganciclovir intravenoso a menudo se administra poco después del trasplante, para seguir con aciclovir o ganciclovir por vía oral, y así evitar la citomegalia grave; el empleo de ambos medicamentos como profilácticos varía y depende del hecho de si el donador, el receptor o ambos presentaron signos de infección previa por el virus mencionado. Durante el periodo de aceptación del injerto se pueden administrar fluoroquinolonas o cefalosporinas de tercera generación para evitar infecciones bacterianas. Como productos profilácticos contra micosis se pueden usar antimicóticos como fluconazol, posaconazol o voriconazol (si se presentó la reacción del injerto contra hospedador). No hay consenso en el empleo de vancomicina para evitar infecciones por bacterias

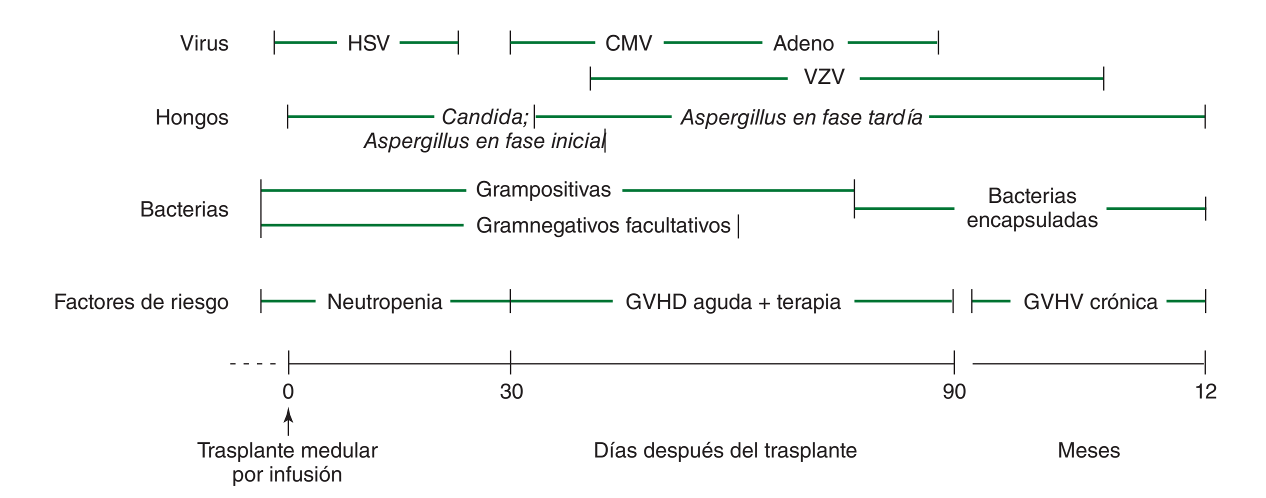


FIGURA 48-1 Factores predisponentes de riesgo y elevada incidencia de infecciones, según las etapas después del trasplante de células madre humanas (CMV, citomegalovirus; GVHD, enfermedad de injerto contra hospedador; HSV, virus del herpes simple; VZV, virus de varicela-zóster) (Modificada con autorización de Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE *et al.*: *Clinical Oncology*, 4a. ed. Elsevier, 2008.)

grampositivas, en parte por el fenómeno posible de selección de enterococos resistentes a tal antibiótico. Una vez que se recupera la función normal del sistema inmunitario, habrá que pensar en la vacunación de nuevo con toxoides de tétanos y difteria, vacuna polisacárida neumocócica y de *H. influenzae*, y vacunas con virus muertos (como el de poliomielitis o influenza).

REFERENCIAS

Safdar A, Armstrong D: Infections in patients with hematologic neoplasms and hematopoietic stem cell transplantation: neutropenia, humoral and splenic defects. *Clin Infect Dis* 2011;53:798-806.
Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW: Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:257.
Young JH, Weisdorf DJ: Infections in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. In Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015, p. 3425.

INFECCIONES EMERGENTES

Los casos descritos a continuación son una discusión novedosa de infecciones emergentes. En tales sucesos, se da prioridad al diagnóstico, aislamiento y tratamiento de individuos infectados y a la vigilancia de la diseminación, contención y control dentro de la población en riesgo.

CASO 20: CORONAVIRUS DE SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO GRAVE (SARS-COV), HONG KONG, 2003

El 11 de febrero de 2003, el Ministerio de Salud de China informó a la Organización Mundial de la Salud que en la provincia de Guandgdong hubo 305 casos de síndrome respiratorio agudo grave (SARS) de causa desconocida, con transmisión a trabajadores sanitarios y contactos domésticos. Se informaron cinco decesos.

El 26 de febrero, un hombre que había viajado por tierra firme en China y Hong Kong fue hospitalizado en Hanoi, Vietnam, con enfermedad respiratoria; poco después murió. Quienes le dieron atención sanitaria en Hanoi, al poco tiempo desarrollaron una enfermedad similar. A finales de febrero se informó un segundo brote en Hong Kong, relacionado a un paciente que había viajado al sur de China.

La mayoría de pacientes con SARS se presentaron con síntomas virales respiratorios de vías superiores que resultaron en neumonía. Las tasas de mortalidad fueron cercanas al 10%, pero más elevadas en pacientes mayores de 65 años.

El 12 de marzo, la OMS emitió un alerta mundial acerca del brote e instituyó medidas de vigilancia en todo el mundo. El 19 de marzo, se informaron 264 pacientes en 11 países. Se instauraron esfuerzos intensos para contener la enfermedad, incluido tamizaje en aeropuertos, aislamiento y cuarentena en gran escala.

Las pruebas de muestras por microscopia electrónica y micromatrices de virus demostraron un coronavirus nuevo, llamado SARS-CoV. El virus se diseminó por gotitas respiratorias y el contacto interpersonal estrecho. Se cree que los hospedadores naturales de SARS-CoV son los murciélagos y los gatos de algalia los hospedadores intermediarios que causan infecciones en personas en los mercados de animales.

Durante la epidemia de SARS, se informaron más de 8 000 casos probables y 774 muertes en 29 países. Desde 2004 ya no ha habido casos conocidos de SARS informados en ninguna parte del mundo.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of severe acute respiratory syndrome-worldwide, 2003. MMWR 2003;52:226.
Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, *et al.*: A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953.
Peiris JSM, Yuen KY, Osterhaus ADME, *et al.*: The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;349:2431.
Wang D, Urisman A, Liu YT, *et al.*: Viral discovery and sequence recovery using DNA microarrays. *PLoS Biol* 2003;1:257.

CASO 21: GRIPE AVIAR, 2003-2014

Los tipos de influenza A múltiple son circulantes en poblaciones de aves silvestres y domésticas en todo el mundo y se clasifican en tipos de influenza aviar A patógena baja (LPAI) e influenza A patógena alta (HPAI) a partir de segmentos génicos de hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). Tienen lugar infecciones esporádicas humanas, en que tipos patógenos bajos se asocian a enfermedad generalmente leve, en tanto que los tipos patógenos altos lo están con enfermedad que va de leve a la muerte. El ejemplo mejor conocido de HPAI es H5N1, pero otros subtipos pueden causar enfermedad humana grave, incluidos H7N7 y H9N2.

Desde noviembre de 2003 se habían informado más de 600 casos esporádicos de infección en personas con influenza A aviaria muy patógena (H5N1), primariamente en 15 países de Asia, África, Pacífico, Europa y Medio Oriente. Indonesia, Vietnam y Egipto habían informado el número más elevado de casos a la fecha. El 8 de enero de 2014, en Canadá se informó el primer caso de infección en humanos con H5N1 en América. Aproximadamente 60% de casos murieron.

Las infecciones en personas con influenza aviar H7N9 se informaron en China en marzo de 2013, con 132 casos y 44

decesos. La mayoría de pacientes tuvieron enfermedad respiratoria grave, alrededor de un tercio murieron. Entre mayo y diciembre de 2013 los informes de infección en humanos por H7N9 registraron menos frecuencia. La disminución de casos probablemente se debió al cierre del mercado de aves vivas junto con el cambio del clima. Desde enero de 2014 la frecuencia de casos informados ha disminuido, lo cual coincide con el comienzo del clima más frío.

La mayoría de personas infectadas han estrechado contacto con aves enfermas o muertas o aves salvajes, aunque hay pruebas de que en algunos brotes tuvo lugar la transmisión de persona a persona limitada no sostenida después de contacto estrecho prolongado.

La preocupación primaria sobre la influenza aviar es el surgimiento de una cepa nueva con transmisibilidad de persona a persona sostenida que mantiene virulencia alta en individuos sin exposición previa. Experimentos con ganancia de función han demostrado que cinco sustituciones son suficientes para transformar el virus H5N1 en un patógeno transmisible que se adquiere en el aire. La realización de tales experimentos de ganancia de función es controvertida y están altamente regulados para asegurar que las cepas no son liberadas accidentalmente o que la información puede utilizarse por grupos terroristas para crear por bioingeniería virus con patogenicidad elevada.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention: Information on avian influenza. http://www.cdc.gov/flu/avianflu/index.htm.

Linster M, Van Boheemen S, de Graaf M, *et al.*: Identification, characterization, and natural selection of mutations driving airborne transmission of A/H5N1 virus. *Cell* 2014;157:329.

CASO 22: HANTAVIRUS, VALLE DE YOSEMITE, 2012

El 16 de agosto de 2012 el National Park Service anunció dos casos confirmados de síndrome pulmonar por hantavirus (HPS) en visitantes al Yosemite National Park, California. El 10 de noviembre, había un total de 10 casos confirmados, tres de los cuales concluyeron en deceso.

Los visitantes del parque habían permanecido en tiendas de campaña, las cuales tenían aislamiento entre las lonas exteriores y las paredes interiores. En el aislamiento se descubrieron infestaciones con ratones venado (*Peromyscus leucopus*), que exponían a los hospedadores a orina y excremento de roedores, los cuales contienen virus infecciosos.

Los pacientes desarrollaron fiebre, escalofríos, mialgia, cefalea y síntomas gastrointestinales, con progresión a dificultad respiratoria y choque. Alrededor de 26 000 visitantes recibieron la notificación de su exposición potencial. Las tiendas de campaña se descontaminaron de manera extensa y se reconstruyeron para eliminar áreas que hubieran servido como hábitats de los ratones.

REFERENCIA

Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Hantavirus pulmonary syndrome in visitors to a national park-Yosemite Valley, California, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012;61:952.

CASO 23: CORONARISUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO DEL MEDIO ORIENTE (MERS-COV), ARABIA SAUDITA, 2012

En 2012, se descubrió un virus nuevo tipo coronavirus en un paciente que murió de neumonía en Arabia Saudita.

El 20 de septiembre de 2012, un médico en Arabia Saudita envió un cultivo de virus respiratorio de un paciente con neumonía al laboratorio del Dr. Fouchier en Holanda para identificación. El virus se identificó por secuenciación de nueva generación como un coronavirus novedoso, relacionado con coronavirus de síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV). Al cabo de varios meses, se documentaron cientos de casos, que incluyeron más de 250 decesos al 1 de julio de 2014. Los cuales se localizaron en países de la península arábiga o cercanos a ella y en viajeros que retornaban de allí. La mayoría de los pacientes con enfermedad grave eran adultos mayores o padecían comorbilidades médicas, la mortalidad general rondaba el 30% de casos informados aunque probablemente era menor dada la ausencia de informes de casos leves.

MERS-CoV se presenta con enfermedad respiratoria aguda y fiebre, que progresa a neumonía. Se ha observado que el virus se disemina de persona a persona por contacto estrecho, pero no hay pruebas de diseminación extrahospitalaria sostenida.

Se piensa que MERS-CoV derivó originalmente de murciélagos. Se descubrió seropositividad en camellos de áreas afectadas y que pueden ser un hospedador intermediario de la transmisión a seres humanos. Están bajo investigación casos y brotes de infección por MERS. Se utiliza PCR para diagnóstico y no hay tratamiento específico, aunque el tratamiento sintomático mejora sustancialmente los resultados en el paciente.

REFERENCIA

Coleman CM, Frieman MB: Emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS Pathogens* 2013;9:e1003595.

CASO 24: BROTE DE ÉBOLA, ÁFRICA ORIENTAL, 2014

El 21 de marzo de 2014, el Ministerio de Salud de Guinea informó un brote en 49 personas de una enfermedad caracterizada por fiebre, diarrea y vómito con una tasa de letalidad de 59%. Las muestras probadas en el Instituto Pasteur, en Francia, fueron positivas para virus de Ébola (virus de la especie de Ébola de Zaire).

El 30 de marzo se informaron casos en las cercanías de Liberia y en mayo se identificaron casos en Sierra Leona. El 18 de junio el problema se había convertido en el brote de enfermedad viral por Ébola más grande informado hasta entonces, con una combinación de 528 casos y 337 muertes (tasa de letalidad de 64 por ciento).

Los casos se caracterizaron por inicio repentino de fiebre y malestar con cefalea, mialgia, vómito y diarrea. Alrededor de 30 a 50% de los pacientes experimentaron síntomas hemorrágicos. El periodo de incubación es en general de ocho a 10 días, aunque fluctúa de dos a 21 días. Los pacientes con enfermedad grave desarrollan trombocitopenia, hemorragia y falla multiorgánica que resulta en choque y muerte.

En tanto las especies hospedadoras definitivas no se hayan identificado, los indicios hacen pensar que los murciélagos frugívoros son un reservorio. El virus inicialmente se transfiere a seres humanos por contacto con animales de reservas naturales infectadas, y luego se disemina de persona a persona por contacto directo por líquidos corporales como sangre, orina, sudor, semen y leche materna. Las partículas virales pueden encontrarse en semen a partir del día 61 del comienzo de la enfermedad. Se cree que muchos pacientes en África se infectan al realizar prácticas fúnebres tradicionales con sus difuntos.

El diagnóstico se realiza por detección del antígeno viral de Ébola, RNA o anticuerpos en sangre. El cuidado del paciente es sintomático, con reemplazo intenso de líquidos y electrólitos. Las vacunas y tratamientos novedosos en la actualidad están bajo desarrollo y prueba en casos y cohortes.

En abril de 2015, se redondeó en 25 000 el número de casos sospechados y confirmados, con una estimación de 10 000 muertes. Las medidas del control del brote se realzaron con cuarentena obligatoria y arreglo de los cuerpos infectados, esfuerzos intensos de seguimiento y vigilancia, así como suministro internacional de provisiones y entrenamiento médico. Los vuelos procedentes de la región del brote han implantado el tamizaje de los pasajeros por fiebre y síntomas asociados. Tales medidas han reducido de manera sustancial el número de casos nuevos, en particular en las regiones más afectadas de Liberia y Sierra Leona.

En Nigeria, Senegal, Estados Unidos, España, Mali y Reino Unido se han identificado casos importados. En Nigeria, la transmisión localizada resultó en 20 casos, pero se frenó la diseminación subsecuente en el país. En tanto el riesgo de que pacientes adicionales infectados entraran a Estados Unidos era bajo, a los trabajadores sanitarios se les avisó mantenerse alertas ante signos y síntomas de la enfermedad por virus del Ébola en viajeros que regresaban de las regiones epidémicas. Tales pacientes son aislados de manera estricta mientras se les aplican pruebas diagnósticas.

La combinación de una enfermedad viral nueva en sobremanera virulenta con una población sin previa inmunización y la diseminación sostenida de persona a persona está extremadamente relacionada y tiene un riesgo sustancial para la salud mundial. Las limitaciones de los recursos médicos de los países afectados tornan muy difícil dar tratamiento a los pacientes y detener la transmisión. La respuesta a este brote requiere cooperación regional e internacional de alto nivel con envío de expertos en la respuesta del brote, trabajadores sanitarios entrenados y equipo de protección personal, entre otras provisiones médicas. Si no se logra contener éste o brotes similares, se propagará una epidemia de consecuencias devastadoras.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention: Ebola hemorrhagic fever website: http://www.cdc.gov/vhf/ebola/index.html.

Dixon MG, Schafer IJ: Ebola viral disease outbreak-West Africa, 2014. *MMWR Morb Mort Wkly Rep* 2014;63:548.

Índice

Nota: el número de página seguido de la letra *f* o *c* indica figuras o cuadros de manera respectiva

O

P

ex_Carroll_4R.indd 838 15/04/16

Q

R

T

U

V

I. BACTERIAS

BACTERIAS AEROBIAS Y FACULTATIVAS

COCOS GRAMPOSITIVOS

Catalasa positivos

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus intermedius
Staphylococcus lugdunensis
Staphylococcus saprophyticus
Staphylococcus spp.

Catalasa negativos

Aerococcus spp.
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Enterococcus spp.
Gemella spp.
Lactococcus spp.
Leuconostoc spp.
Pediococcus spp.
Streptococcus agalactiae (Group B)
Streptococcus canis (Group G)
Streptococcus gallolyticus (Group D, formerly *S. bovis*)
Streptococcus infantarius (Group D, formerly *S. bovis*)
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (Group A)
Viridans group streptococci
Streptococcus anginosus
Streptococcus constellatus
Streptococcus intermedius
Streptococcus mitis
Streptococcus mutans
Streptococcus salivarius
Streptococcus sanguis
Abiotrophia spp. (nutritionally variant streptococci)
Granulicatella spp. (nutritionally variant streptococci)

COCOS GRAMNEGATIVE

Moraxella catarrhalis
Neisseria gonorrhoeae
Neisseria meningitidis
Neisseria spp.

BACILOS GRAMPOSITIVOS

Arcanobacterium spp.
Bacillus anthracis
Bacillus cereus
Corynebacterium diphtheria
Corynebacterium jeikeium
Corynebacterium spp.
Corynebacterium urealyticum
Erysipelothrix rhusiopathiae
Gardnerella vaginalis
Gordonia spp.
Listeria monocytogenes
Mycobacterium abscessus
Mycobacterium avium
Mycobacterium bovis
Mycobacterium chelonae
Mycobacterium fortuitum
Mycobacterium intracellulare
Mycobacterium kansasii
Mycobacterium leprae
Mycobacterium marinum
Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium spp.
Nocardia asteroids
Rhodococcus equi
Tropheryma whippeli
Tsukamurella spp.

BACILOS GRAMNEGATIVOS

Enterobacterias

Citrobacter freundii
Citrobacter koseri
Citrobacter spp.
Cronobacter sakazakii
Edwardsiella tarda
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Escherichia coli
Escherichia spp.
Klebsiella oxytoca
Klebsiella granulomatis
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella pneumoniae subspp. *rhinocscleromatis*
Morganella morganii
Plesiomonas shigelloides
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Providencia alcalifaciens
Providencia rettgeri
Providencia stuartti
Salmonella Choleraesuis
Salmonella Paratyphi A
Salmonella Paratyphi B
Salmonella Typhi
Salmonella spp.
Serratia liquefaciens
Serratia marcescens
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Yersinia enterocolitica
Yersinia pestis
Yersinia pseudotuberculosis

Bacilos fermentadores no enterobacterias

Aeromonas caviae
Aeromonas hydrophila
Aeromonas spp.
Aeromonas veronii biovar sobria
Pasteurella multocida
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus
Vibrio spp.
Vibrio vulnificus

Bacilos no fermentadores, no enterobacterias

Acinetobacter spp.
Alcaligenes spp.
Brevundimonas spp.
Burkholderia cepacia
Burkholderia mallei
Burkholderia pseudomallei
Chryseobacterium spp.
Comamonas spp.
Eikenella corrodens
Moraxella spp.
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas spp.
Ralstonia pickettii
Roseomonas spp.
Shewanella putrefaciens
Sphingobacterium spp.
Sphingomonas spp.
Stenotrophomonas maltophilia

OTROS BACILOS Y COCOBACILOS GRAMNEGATIVOS

Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans
Aggregatibacter (Haemophilus) aphrophilus
Arcobacter spp.
Bartonella bacilliformis
Bartonella henselae
Bartonella spp.
Bordetella bronchiseptica
Bordetella parapertussis
Bordetella pertussis
Bordetella spp.
Brucella melitensis
Brucella spp.
Campylobacter fetus
Campylobacter jejuni
Campylobacter spp.
Capnocytophaga spp.
Cardiobacterium hominis
Chlamydophila pneumonia
Chlamydophila psittaci
Chlamydia trachomatis
Ehrlichia chaffeensis
Francisella tularensis
Haemophilus aegyptius
Haemophilus ducreyi
Haemophilus influenza
Haemophilus parainfluenzae
Haemophilus spp.
Helicobacter pylori
Kingella kingae
Legionella micdadei
Legionella pneumophila
Legionella spp.
Orientia tsutsugamushi
Streptobacillus moniliformis

MICOPLASMAS

Mycoplasma genitalium
Mycoplasma hominis
Mycoplasma pneumoniae
Mycoplasma spp.
Ureaplasma urealyticum

RICKETTSIA Y MICROORGANISMOS RELACIONADOS

Anaplasma

Ehrlichia

Ehrlichia chaffeensis
Ehrlichia ewingii

Rickettsias

Rickettsia akari
Rickettsia conorii
Rickettsia mooseri
Rickettsia prowazekii
Rickettsia rickettsii

MICROORGANISMOS ESPIRALES

Borrelia burgdorferi
Borrelia recurrentis
Leptospira interrogans
Treponema pallidum

BACTERIAS ANAEROBIAS

BACILOS GRAMNEGATIVOS

Grupo Bacteroides fragilis
Bacteroides ovatus
B distasonis
B thetaiotamicron
B vulgatus
Bacteroides spp.
Fusobacterium necrophorum
Fusobacterium nucleatum
Mobiluncus spp.
Porphyromonas
Prevotella melaninogenica
Prevotella

COCOS GRAMNEGATIVOS

Veillonella parvula

BACILOS GRAMPOSITIVOS QUE NO PRODUCEN ESPORAS

Actinomyces israelii
Actinomyces
Bifidobacterium
Eggerthella
Eubacterium
Lactobacillus
Propionibacterium acnes
Propionibacterium

BACILOS GRAMPOSITIVOS QUE PRODUCEN ESPORAS

Clostridium botulinum
Clostridium difficile
Clostridium perfringens
Clostridium tetani
Clostridium

COCOS GRAMPOSITIVOS

Peptococcus niger
Peptostreptococcus
Peptoniphilus

II. VIRUS

DNA VIRUS

Adenovirus
Mastadenovirus
Adenovirus humanos
Hepadnavirus
Orthohepadnavirus
Virus de la hepatitis B
Herpesvirus
Alfaherpesvirus
Simplexvirus
Herpesvirus B
Virus del herpes simple 1 y 2
Varicellovirus
Virus de varicela zoster
Betaherpesvirus
Cytomegalovirus
Citomegalovirus
Roseolovirus
Herpesvirus humano 6 y 7
Gammaherpesvirus
Lymphocryptovirus
Virus de Epstein-Barr
Rhadinovirus
Herpesvirus humano 8
Papilomavirus
Papillomavirus
Papilomavirus humano
Parvovirideae
Bocavirus
Bocavirus humano
Erythrovirus
Parvovirus humano B19
Poliomavirus
Polyomavirus
Virus BK, virus JC, virus de células de Merkel, SV40
Poxvirideae
Molluscipoxvirus
Orthopoxvirus
Virus de enfermedad vacuna (vaccinia)
Virus de la viruela de los simios
Virus de la viruela (varicela)
Virus vaccinia
Parapoxvirus
Virus de ectima contagioso
Virus similar al de la enfermedad vacuna
Yatapoxvirus
Virus del molusco contagioso
Virus Yabapox y Tanapox

RNA VIRUS

Arenavirus
Arenavirus
Virus Junin
Virus de la coriomeningitis linfocítica
Virus de la fiebre Lassa
Virus Machupo
Astrovirus
Astrovirus
Astrovirus humanos
Bornavirus
Bornavirus
Virus de la enfermedad de Borna
Bunyavirus
Hantavirus
Virus Hantaan
Virus de Seúl
Virus sin nombre
Nairovirus
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea y el Congo
Otros serogrupos
Orthobunyavirus
Serogrupo Bunyamwera
Serogrupo California
Otros serogrupos
Phlebovirus
Virus de la fiebre del valle de Rift
Virus de la fiebre de Sandfly
Calicivirus
Norovirus
Virus de Norwalk
Sapovirus

(Continúa)

Virus similares al virus de Sapporo
Coronavirus
Coronavirus
Coronavirus humanos
Coronavirus SARS
Torovirus
Torovirus humanos
Filovirus
Ebolavirus
Virus Ébola
Marburgvirus
Virus Marburg
Flavivirus
Flavivirus
Arbovirus del grupo B, virus transmitido por mosquito, virus de la encefalitis, de la fiebre amarilla y del dengue
Virus de la encefalitis transmitida por garrapata
Hepacivirus
Virus de la hepatitis C
Hepevirus
Hepevirus
Virus de la hepatitis E
Ortomixovirus
Influenzavirus A, B
Virus de la influenza (gripe) tipos A y B
Influenzavirus C
Virus C de la influenza
Paramixovirus
Respirovirus
Virus de la parainfluenza
Rubulavirus
Virus de la parotiditis
Virus de la parainfluenza
Morbillivirus
Virus del sarampión
Pneumovirus
Virus sincitial respiratorio
Henipavirus
Virus Hendra
Virus Nipah
Metapneumovirus
Metaneumovirus humanos
Picornavirus
Enterovirus
Coxsackievirus A
Coxsackievirus B
Echovirus
Enterovirus
Poliovirus
Hepatovirus
Virus de la hepatitis A
Parechovirus
Parechovirus
Rhinovirus
Virus del resfriado común
Reovirus
Coltivirus
Virus de la fiebre por garrapatas de Colorado
Rotavirus
Rotavirus humanos
Retroviridea
Deltaretrovirus
Virus linfotrópicos T humanos 1 y 2
Gammaretrovirus
Retrovirus XMRV
Lentivirus
Virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2
Rabdovirus
Lyssavirus
Virus de la rabia
Vesiculovirus
Virus de la estomatitis vesicular
Togavirus
Alphavirus
Arbovirus del grupo A, virus transmitido por mosquito, virus de la encefalitis equina
Rubivirus
Virus de la rubéola

VIRUS HUMANOS NO CLASIFICADOS
Virus de la hepatitis D

AGENTES NO CONVENCIONALES (PRIONES)
Agente de Creutzfeldt-Jakob

III. HONGOS

DERMATOFITOS
Epidermophyton floccosum
Microsporum canis
Microsporum gypseum
Microsporum
Trichophyton mentagrophytes
Trichophyton rubrum
Trichophyton tonsurans
Trichophyton verrucosum
Trichophyton

LEVADURAS Y HONGOS SEMEJANTES A LAS LEVADURAS
Candida albicans
Candida dubliniensis
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida krusei
Candida lusitaniae
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Candida
Cryptococcus gattii
Cryptococcus neoformans
Geotrichum
Malassezia
Pneumocystis jiroveci
Rhodotorula
Saccharomyces spp.
Trichosporon spp.

HONGOS DISMÓRFICOS
Blastomyces dermatitidis
Coccidioides immitis
Coccidioides posadasii
Histoplasma capsulatum
Paracoccidioides brasiliensis
Penicillium marneffei
Sporothrix schenckii

MOHOS HIALINOS
Acremonium spp.
Aspergillus flavus
Aspergillus fumigatus
Aspergillus lentulus
Aspergillus niger
Aspergillus terreus
Aspergillus spp.
Scedosporium apiospermum
Fusarium spp.
Paecilomyces spp.
Pseudallescheria boydii
Scopulariopsis spp.

HONGOS DEMATIÁCEOS
Alternaria spp.
Aureobasidium spp.
Bipolaris spp.
Cladophialophora bantiana
Cladophialophora spp.
Cladosporium spp.
Curvularia spp.
Exophiala spp.
Exserohilum spp.
Fonsecaea pedrosoi
Fonsecaea spp.
Hortaea werneckii
Madurella spp.
Phialophora verrucosa
Phialophora spp.
Piedraia hortae
Rhinocladiella aquaspersa
Scedosporium prolificans
Wangiella dermatitidis

CIGOMICETOS
Lichtheimia spp.
Cunninghamella spp.
Mucor spp.
Rhizomucor spp.
Rhizopus oryzae
Rhizopus spp.

IV. PARÁSITOS

PROTOZOOS
Amebas
Acanthamoeba castellanii
Acanthamoeba spp.
Balamuthia mandrillaris
Endolimax nana
Entamoeba dispar
Entamoeba histolytica
Entamoeba moshkovskii
Entamoeba spp.
Hartmanella spp.
Iodamoeba butschlii
Naegleria fowleri
Ciliados
Balantidium coli
Flagelados
Giardia lamblia
Leishmania braziliensis
Leishmania donovani complex
Leishmania major
Leishmania mexicana complex
Leishmania tropica
Leishmania spp.
Trichomonas vaginalis
Trypanosoma brucei gambiense
Trypanosoma brucei rhodesiense
Trypanosoma cruzi
Esporozoarios
Babesia microti
Cryptosporidium hominis
Cryptosporidium parvum
Cyclospora cayetanensis
Plasmodium falciparum
Plasmodium malariae
Plasmodium ovale
Plasmodium vivax
Toxoplasma gondii

MICROESPORAS
Bracheola spp.
Encephalitozoon cuniculi
Encephalitozoon hellum
Encephalitozoon intestinalis
Encephalitozoon spp.
Enterocytozoon bieneusi
Nosema spp.
Pleistophora spp.
Trachipleistophora hominis
Vittaforma corneae

HELMINTOS
Cestodos
Diphyllobothrium latum
Dipylidium caninum
Echinococcus granulosus
Hymenolepis nana
Taenia saginata
Taenia solium
Nematodos
Ancylostoma duodenale
Ancylostoma caninum
Anisakis simplex
Ascaris lumbricoides
Baylisascaris procyonis
Brugia malayi
Dracunculus medinensis
Enterobius vermicularis
Necator americanus
Onchocerca volvulus
Strongyloides stercoralis
Toxocara canis
Trichinella spiralis
Trichuris trichiura
Wuchereria bancrofti
Trematodos
Clonorchis sinensis
Fasciola hepática
Fasciolopsis buski
Paragonimus westermani
Schistosoma haematobium
Schistosoma japonicum
Schistosoma mansoni

REFERENCIAS: García LS: *Diagnostic Medical Parasitology*, 5a. ed. American Society for Microbiology, 2007; Mitchell TG: Kingdom fungi: fungal phylogeny and systematics. In: *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, *Medical Mycology* 10a. ed. Merz WG, Hay RJ (editors). Hodder Arnold, London, 2005.